

**IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE**

In re Application of:

Naganori Numao

Serial No.: 09/899,030

Filed: July 6, 2001

For: PREDICTION OF UNKNOWN  
BIOLOGICAL FUNCTION OF  
THE ACTIVE SITE IN  
PROTEINS OR/AND  
POLYNUCLEOTIDES, AND ITS  
UTILIZATION



Art Unit: To be assigned

Examiner: To be assigned

Atty Docket: 21776/0061

**SUBMISSION OF CERTIFIED PRIORITY DOCUMENT(S) and**  
**CLAIM TO PRIORITY UNDER 35 U.S.C. § 119**

Commissioner for Patents  
Washington, D.C. 20231

Sir:

Priority under 35 U.S.C. § 119 is hereby claimed to the following priority document(s), certified copies of which are enclosed. The documents were filed in a foreign country within the proper statutory period prior to the filing of the above-referenced United States patent application.

Priority Document Serial No.

Country

Filing Date

2000-206129

Japan

July 7, 2000

Acknowledgement of this claim and submission in the next official communication is respectfully requested.

Respectfully submitted,

  
George R. Pettit, Reg. No. 27,369  
Connolly Bove Lodge & Hutz LLP  
1990 M Street, N.W.  
Washington, D.C. 20036-3425  
Telephone: 202-331-7111

Date: 10/04/01

日本国特許庁  
JAPAN PATENT OFFICE



別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office

出願年月日  
Date of Application:

2000年 7月 7日

出願番号  
Application Number:

特願2000-206129

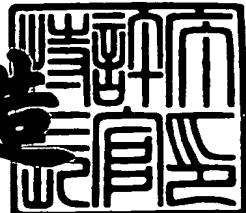
出願人  
Applicant(s):

沼尾 長徳

2001年 6月18日

特許庁長官  
Commissioner,  
Japan Patent Office

及川耕造



出証番号 出証特2001-3056743

【書類名】 特許願  
【整理番号】 XY12410  
【提出日】 平成12年 7月 7日  
【あて先】 特許庁長官殿  
【国際特許分類】 A01N 1/00  
【発明の名称】 蛋白質及び／又は核酸配列の活性部位由来の新しい生物  
・機能活性の予測とその活性用途  
【請求項の数】 3  
【発明者】  
【住所又は居所】 東京都町田市原町田 5-2-17  
【氏名】 沼尾 長徳  
【特許出願人】  
【住所又は居所】 東京都町田市原町田 5-2-17  
【氏名又は名称】 沼尾 長徳  
【代理人】  
【識別番号】 100090273  
【弁理士】  
【氏名又は名称】 國分 孝悦  
【電話番号】 03-3590-8901  
【手数料の表示】  
【予納台帳番号】 035493  
【納付金額】 21,000円  
【提出物件の目録】  
【物件名】 明細書 1  
【物件名】 図面 1  
【物件名】 要約書 1  
【ブルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 蛋白質及び/又は核酸配列の活性部位由来の新しい生物・機能活性の予測とその活性用途

【特許請求の範囲】

【請求項1】 任意の蛋白質の全アミノ酸配列から、活性部位に関する既知モチーフを1つ以上含有する2~64個のアミノ酸残基からなる活性部位領域を選択して、その領域のアミノ酸残基にEIIP (Electron-ion interaction potential) 指標数を付与し、得られた数値列（以下EIIP列と称す）を離散フーリエ変換（以下DFTと称す）することによって周波数スペクトル（以下、活性部位周波数スペクトルと称す）をもとめ、その活性部位由来の特異的振動数値（以下、特異的振動数値と称す）を選定することによって、任意の蛋白質の新しい生物・機能活性を予測する方法。

【請求項2】 活性部位の信号としての既知モチーフとして、GT、AS、GA、ID、TR、SR、LK、TXW、VXH、MXH、WXP、AXC、GXS (G、T、A、S、I、D、R、L、K、W、V、H、M、P、C、Xはグリシン、スレオニン、アラニン、セリン、イソロイシン、アスパラギン酸、アルギニン、ロイシン、リジン、トリプトファン、バリン、ヒスチジン、メチオニン、プロリン、システイン及び20種類のアミノ酸の何れかを意味する) 及び/又はそれらの逆配列の何れか1つ以上を用いる請求項1の、任意の蛋白質の新しい生物・機能活性を予測する方法。

【請求項3】 請求項1乃至2記載の方法によって予測された任意の蛋白質又は核酸配列の生物・機能活性の用途。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は任意の蛋白質の新しい生物機能活性を効率良く予測するための知的情報技術に関する。

【0002】

【従来の技術】

蛋白質（又は核酸配列）の生物・機能活性の予測法は、アミノ酸配列（又は核

酸配列) の相同性に依存した多数の方法が開発されているが、それらの方法は個別的であり一般性に欠けている。従って、比較する配列間の相同性が低い場合には生物・機能活性の予測は極めて困難である。現在、簡便で一般性の高い方法の開発が社会から強力に要請されている。特に、現在ゲノム解析により得られる蛋白質(又は核酸配列) の機能解明に関する新しい方法論の提供が強く望まれている。

## 【0003】

現在、任意の蛋白質(または核酸配列) の生物・機能活性を予測する場合、最もよく用いられる方法はその蛋白質の全アミノ酸配列(又は核酸配列) 中に存在するモチーフの探索である (A. Bairoch et al., Nucleic Acids Res., 20, 2019-2022 (1992))。この方法は、任意の蛋白質の機能を効率良く予測する方法の1つとして知られている (M.J.E.Sternberg, CABIOS, 7, 257-260 (1991))。また、もう1つ別の検索方法として、任意の規蛋白質の全アミノ酸配列と生物活性既知である蛋白質の全アミノ酸配列とのホモロジー検索法である (R. Doolittle, Science, 214, 149-159 (1981))。これまでのところ、それら2つの方法が最も良く使われる機能予測法であるが、個別的であり、一般性に欠ける。即ち、比較する2つの蛋白質のアミノ酸配列にモチーフや相同性が見出せない場合には生物・機能活性を予測できない。たとえこれらのアミノ酸配列の相同性が高くとも生物活性が同じであるとは限らないことも良く知られている。依然としてそれらの方法を改良が望まれている。

## 【0004】

1985年に、ヴェルコヴィッチ等は生物活性が全く同じである少なくとも2つ以上の蛋白質の全アミノ酸配列や全核酸配列のアミノ酸や核酸にEIIP指標数を付与し、それらをデジタルプロセッシング法で計算するとそれらのアミノ酸配列や核酸配列の相同性には関係なくそれらの蛋白質の振動数値は特定の値に収斂する画期的な方法論を報告した (V. Veljkovic et al, IEEE 32, 337-3418(1985); V. Veljkovic et al, Cancer Biochem. Biophys., 9, 139-148 (1987))。この方法は、同じ生物活性を有する有機高分子化合物(蛋白質類や核酸配列)の分類法の1つとして非常に有用かもしれない。然しながら、蛋白質は通常単独分子

で多数の機能を発現しうることが知られている。また、仮に蛋白質単独で特異的な周波数スペクトルが選択的に得られたとしても必ずしもその周波数スペクトルがその蛋白質の生物・機能活性部位に依存した周波数スペクトルであるか否か決定出来ない。彼等はこれまで蛋白質の特異的振動数値について多数報告 (V. Veljkovic et al, *Cancer Biochem. Biophys.*, 9, 139-148 (1987); I. Cosic, *IEE E*, 41, 1101-1114 (1994)) しているが、蛋白質単独での機能・活性予測を言及していない。更に、彼等の一連の報告を詳細に検討すると、デジタルプロセッシング法に用いたアミノ酸配列は全てシグナル領域を予め排除した配列で計算している。然しながら、そのシグナル領域の排除については依然として人為的な要因が入る。この点を除去する為には、シグナル領域を含むアミノ酸配列を使った方が望ましい。

#### 【0005】

本発明者は、既に蛋白質の活性部位（基質結合部位や触媒活性部位）に関する一般的予測法を報告した (N. Numao et al, *Biol. Pharm. Bull.*, 16, 1160-1163 (1993))。即ち、任意の蛋白質の活性部位領域には 13 種類の相補的アミノ酸ユニット [GT、AS、GA、ID、TR、SR、LK、TXW、VXH、MXH、WXP、AXC、GXS [(G、T、A、S、I、D、R、L、K、W、V、H、M、P、C、X) はグリシン、スレオニン、アラニン、セリン、イソロイシン、アスパラギン酸、アルギニン、ロイシン、リジン、トリプトファン、バリン、ヒスチジン、メチオニン、プロリン、システイン及び 20 種類のアミノ酸の何れかを意味する] 又はそれらの逆配列のいずれか 1 つ以上の相補的アミノ酸ユニットがその領域に存在することが報告されている。更に、本発明者らは蛋白質の活性部位予測法をリボザイムなどの核酸配列の触媒活性領域を予測する場合、翻訳したアミノ酸配列中に上記のモチーフ配列の存在するところが活性領域であることを報告している (N. Numao et al., EP Appl. N o 91311129.0 (1991))。その方法はあらゆる種類の蛋白質のアミノ酸配列や核酸配列の活性部位を予測する方法として有用であるが、生物・機能活性の種類と活性部位領域との関連性を全く言及していない。

#### 【0006】

##### 【発明が解決しようとする課題】

本発明の目的は、既知の方法を組み合わせることによって従来法より効率よく、またより一般的に蛋白質（または核酸配列）の活性部位由来の生物・機能活性を予測できる方法を提供することである。

## 【0007】

## 【課題を解決するための手段】

本発明者は銳意検討した結果、アミノ酸配列（又は核酸配列）中に存在する活性部位領域とその全アミノ酸配列（又は核酸配列）を組み合わせることによって、单一蛋白質や核酸配列の活性部位由来の生物・機能活性を予測しうる方法を見出した。この方法では、EMBL、PIR、SWISS-PROT等のデータベース[図1 (A) に登録された図1 (B) の蛋白質（アミノ酸配列）]を用いる。

## 【0008】

即ち、第一段階はヴェルコヴィッチ等（(V. Veljkovic et al, Cancer Biochem. Biophys., 9, 139-148 (1987); I. Cosic, IEEE, 41, 1101-1114 (1994))の方法に従って、任意の蛋白質の全アミノ酸配列のアミノ酸（又は核酸）にEIIP (Electron-ion interaction potential) 指標数を付与し、図1 (C) の得られた数値列（以下EIIP列と称す）を離散フーリエ変換（以下DFTと称す）することによって全アミノ酸配列のEIIP列をDFTにより得られた図1 (D) の周波数スペクトル（以下全アミノ酸周波数スペクトルと称す）を自己クロスし、ピークの相対強度（高さ）に基づいて多数のピークから、その蛋白質分子全体に由来する非特異的振動数値を選定する。

ヴェルコヴィッチ等の方法を具体的に説明する。即ち、鎖長Lのアミノ酸配列 $a_0 a_1 a_2 a_3 \dots a_{L-3} a_{L-2} a_{L-1}$ の残基にEIIP指標値（(V. Veljkovic et al, Cancer Biochem. Biophys., 9, 139-148 (1987)) を付与し、EIIP列 $f_n$  ( $n=0, 1, 2, 3, \dots, L-3, L-2, L-1$ ) [図1 (C)]を作成する。但し、EIIP列は2のべき乗になるように、アミノ酸配列を延長する。延長された部分の数値列の値はアミノ酸配列の平均EIIP指標値を採用する。

アミノ酸残基に与えるEIIP指標値は次の通りである。

## 【0009】

Leu 0.0000    Ile 0.0000    Asn 0.0036    Gly 0.0050    Val 0.0057    Glu 0.0

058 Pro 0.0198

His 0.0242 Lys 0.0371 Ala 0.0373 Tyr 0.0516 Trp 0.0548 Gln 0.0

761 Met 0.0823

Ser 0.0829 Cys 0.0829 Thr 0.0941 Phe 0.0946 Arg 0.0959 Asp 0.1

263

## 【0010】

得られたEIIP列 $f_n$  ( $n=0,1,2,3, \dots, L-3, L-2, L-1$ ) [図1 (C)]を、下記の離散フーリエ変換 (DFT) 式、即ち

$$F_m = \sum_{n=0,1,2,3, \dots, L-3, L-2, L-1} f_n e^{2\pi n i / L}$$

でもって処理し、周波数スペクトル $F_m$  [図1 (D)]を得る。 $F_m$ は周期性条件を満たす。即ち、 $F_{M-m} = F_m^*$ である。この条件から、 $m = 0, 1, 2, \dots, L/2$ なる $F_m$ のみが情報をもつ。

## 【0011】

第二段階は、本発明者が既に報告 (N. Numao et al, Biol. Pharm. Bull., 16, 1160-1163 (1993)) した、任意の蛋白質の全アミノ酸配列中の活性部位に関する既知モチーフとして、GT、AS、GA、ID、TR、SR、LK、TXW、VXH、MXH、WXP、AXC、GXS又はその逆配列 (G、T、A、S、I、D、R、L、K、W、V、H、M、P、C、Xはグリシン、スレオニン、アラニン、セリン、イソロイシン、アスパラギン酸、アルギニン、ロイシン、リジン、トリプトファン、バリン、ヒスチジン、メチオニン、プロリン、システイン及び20種類のアミノ酸の何れかを意味する) のうち何れか1つ以上を含有する2~64個のアミノ酸残基からなる活性部位領域 [図1 (E)]のアミノ酸 (又は核酸) にEIIP (Electron-ion interaction potential) 指標数を付与し、第一段階の方法と同様に、その数値列 (以下EIIP列と称す) を離散フーリエ変換 (以下DFTと称す) することによって得られた図1 (F) の周波数スペクトル (以下活性部位周波数スペクトルと称す) 及びその全アミノ酸配列のEIIP列をDFTにより得られた図1 (D) の周波数スペクトル (以下全アミノ酸周波数スペクトルと称す) をクロス (掛け算) し、ピークの相対強度 [図1 (G)]のに基づいて多数のピークからその蛋白質の活性部位由来の振動数値を選定する。

## 【0012】

第三段階は、上記の2～64個のアミノ酸残基からなる活性部位領域のアミノ酸残基全てを20種類のアミノ酸のうち何れか1つのアミノ酸を使って置換するか又は2～64個のアミノ酸残基からなる活性部位を変えず、それ以外の領域全てを20種類のアミノ酸のうち何れか1つのアミノ酸を使って置換した全アミノ酸配列（以下、置換全アミノ酸配列と称する）のアミノ酸残基にEIIP指標数を付与し、得られたEIIP列をDFTすることによって置換全アミノ酸周波数スペクトルを求め、そのスペクトルをもとの全アミノ酸周波数スペクトルとクロスする。そして、第一段階と第二段階の方法で選定された活性部位由来の振動数値を第三段階の結果から確認する。

## 【0013】

上記3段階方法を用いて、効率よく任意の蛋白質の活性部位由来の特異的振動数値を選定し、その蛋白質の生物・機能活性を予測する方法を見出し、本発明を完成するに到った。

## 【0014】

即ち、本発明者は、23アミノ酸残基からなり抗菌活性を有するマゲイニン2を含有するマゲイニン前駆体を検討した。マゲイニン前駆体は303個のアミノ酸残基からなり、その配列中にはマゲイニン2が5つとマゲイニン1が1つコードされている（M. Zasloff, Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.A., 84, 5449-5453 (1987)）。それらのアミノ酸配列はSWISS-PROTに登録されている。

本発明者は問題を解決するための手段を開発するための作業仮説として、マゲイニン2（又はマゲイニン1）のアミノ酸配列を前駆体アミノ酸配列に存在する活性部位領域と仮定した。

## 【0015】

先ず、第一段階はヴェルコヴィッチ等の方法（V. Veljkovic et al, IEEE 32, 337-3418(1985) ; V. Veljkovic et al, Cancer Biochem. Biophys., 9, 139-148 (1987)）に従って、マゲイニン前駆体の全アミノ酸周波数スペクトルを自己クロスすることにより、前駆体の全アミノ酸周波数スペクトル（図2）を求める。図2より、ピークのS/N（Sはシグナルピーク、Nはノイズピークを指す）の相対

強度から、上位5つまでのピークを選択する。（）は演算に用いたEIIIP列を示す（以下、同様）。

【0016】

【表1】

全配列由来の振動数値 (512) 0.4355 0.0645 0.4785 0.4336 0.0664

【0017】

第二段階は、それら5つのピークから活性部位（マゲイニン2）に由来するピークを選定するために、前駆体の全アミノ酸周波数スペクトルと活性部位領域と仮定したマゲイニン2のアミノ酸配列から活性部位周波数スペクトルを求め、それらをクロスした（図3）。図3から活性部位由来のピークを表2にまとめた。

【0018】

【表2】

活性部位由来の振動数値 (512) 0.4355 0.4336 0.0645 0.0664 0.2598

【0019】

第三段階は、第二段階で得られた5つのピークが活性部位に由来しているかどうか確認するために、前駆体と活性部位領域のアミノ酸残基を全てロイシンで置換した置換全アミノ酸周波数スペクトルと全アミノ酸周波数スペクトルをクロスし、図4のような前駆体の全アミノ酸周波数スペクトルが得られた。図2や図3と同じ条件でピークを選択すると表3になる。但し、この場合、置換に用いるアミノ酸残基はロイシン以外の19種類のアミノ酸の何れでも構わない。

【0020】

【表3】

置換全配列由来の振動数値 (512) 0.4355 0.0645 0.4785 0.4336 0.0664

【0021】

表1、表2、表3を整理すると表4になる。

【0022】

## 【表4】

## マゲイニン

全配列由来の振動数値	(512)	0. 4355	0. 0645	0. 4785	0. 4336	0. 0664
活性部位由来の振動数値	(512)	0. 4355	0. 4336	0. 0645	0. 0664	0. 2598
置換全配列の振動数値	(512)	0. 4355	0. 0645	0. 4785	0. 4336	0. 0664

## 【0023】

表4から判るように、0. 0664、0. 2598及び0. 4336のピークが活性部位由来の主なピークである。0. 4336の値は既知文献 (V. Veljkovic et al, Cancer Biochem. Biophys., 9, 139-148 (1987); I. Cosic, IEEE, 41, 1101-1114 (1994)) に基づけばキナゼやフィブリナーゲンの数値 (0. 4296、0. 4423) に近い。マゲイニン2はこれらの生物活性も期待できるかもしれない。更に、本発明者等はマゲイニン2誘導体が抗菌活性以外にオキザロアセテートに対して脱炭酸活性を有していることを見出した (N. Numao et al, Biol. Pharm. Bull., 22, 73-76 (1999))。従って、0. 0664、0. 2598及び0. 4336の何れか又は全部の数値をもつ化合物は脱炭酸活性を有する可能性が高い。

## 【0024】

本発明者は活性部位領域が1箇所だけの参考例として、高カルシウム血症治療薬として知られ、32個のアミノ酸からなる鮭カルシトニン (I) とその前駆体 (136個のアミノ酸) について上記マゲイニン2と同様の操作を行った。それらのアミノ酸配列はSWISS-PROTに登録されている。

第一段階として、鮭カルシトニン (I) 前駆体の全アミノ酸配列を自己クロスすることにより、前駆体の全アミノ酸周波数スペクトル (図5) を求め、ピークの相対強度に従って前駆体全分子由来の5つのピークを選択する。第二段階は、活性部位領域として仮定した鮭カルシトニン (I) の活性部位周波数スペクトルと鮭カルシトニン前駆体の全アミノ酸配列を全アミノ酸周波数スペクトルをクロスさせ、鮭カルシトニン (I) 由来のピークを選択する (図6)。第三段階は、第二段階で得た5つのピークが鮭カルシトニン部位由来のピークかどうかを確認するために、その前駆体中に存在する鮭カルシトニン領域 (アミノ酸番号84~

114) をロイシンで置換した置換全アミノ酸周波数スペクトルと全アミノ酸周波数スペクトルをクロスし、図7のような前駆体の全アミノ酸周波数スペクトルが得られる。そこから求めた振動数値を置換全配列の振動数値Iと表示する。マゲイニンと同じ条件でピークを選択し、整理すると表5になる。又、第三段階の別法として、前駆体のアミノ酸配列中、鮭カルシトニンがコードされている領域(アミノ酸番号84～114)のアミノ酸配列以外のアミノ酸残基すべてをロイシンで置換した置換全アミノ酸配列を上法に従って演算した(図8)。その結果を置換全配列の振動数値IIとして表5に記載した。但し、この場合も、置換に用いるアミノ酸残基はロイシン以外の19種類のアミノ酸の何れでも構わない。

## 【0025】

## 【表5】

## 鮭カルシトニン

全配列由來の振動数値	(256)	0. 0469	0. 1328	0. 1445	0. 1992	0. 4063
活性部位由來の振動数値	(256)	0. 1563	0. 2734	0. 1445	0. 0469	0. 1523
置換全配列の振動数値 I	(256)	0. 1250	0. 0469	0. 0508	0. 0195	0. 1445
置換全配列の振動数値 II	(256)	0. 0469	0. 0195	0. 1680	0. 0508	0. 2734

## 【0026】

表5から、0. 1445、0. 1523、0. 1563と0. 2734のピークが鮭カルシトニン(I)由来のピークである。既知文献((V. Veljkovic et al, Cancer Biochem. Biophys., 9, 139-148 (1987); I. Cosic, IEEE, 41, 1101-1114 (1994))にはそれらの数値を示す蛋白質が記載されていないので、鮭カルシトニン(I)の新しい生物・機能活性が不明である。然しながら、鮭カルシトニン(I)にはすくなくとも2つ以上の振動数値に由来する生物・機能活性が期待できる。

## 【0027】

本発明者は更に、活性部位由來の生物活性が分子生物学的に同定されている例として、そのアミノ酸配列のC末端領域が欠失した蛋白質は抗ウィルス活性が殆どなくなることが知られているガンマインターフェロン((R. Wetzel et al, Protein Eng, 3, 611-623 (1987))について、上記の例(マゲイニンや鮭カルシトニン)と同様の操作を行った。そのアミノ酸配列はSWISS-PROTに登録されており

、166個のアミノ酸残基から構成されている。ガンマイインターフェロンの活性部位領域は既に予測 (N. Numao et al, Biol. Pharm. Bull., 16, 1160-1163 (1993)) されているので、それを参考にした。

第一段階として166個のアミノ酸残基からなる、ガンマイインターフェロンの全アミノ酸配列を自己クロスすることにより、ガンマイインターフェロンの全アミノ酸周波数スペクトル（図9）を求める。ピークの相対強度に従って、上位5つを選択する。第二段階は、ガンマイインターフェロンの活性部位領域である132～162の活性部位周波数スペクトルとガンマイインターフェロンの全アミノ酸配列を全アミノ酸周波数スペクトルをクロスさせ、132～162由来のピークを5つ選択する（図10）。第三段階は、第二段階で得た5つのピークが132～162由来かどうかを確認するために、ガンマイインターフェロンに存在する活性部位領域（132～162）をロイシンで置換した置換全アミノ酸周波数スペクトルと全アミノ酸周波数スペクトルをクロスし、図11のような前駆体の全アミノ酸周波数スペクトルが得られた。又、第三段階の別法として、前駆体のアミノ酸配列中、132～162のアミノ酸配列を残し、とのアミノ酸残基すべてをロイシンで置換した置換全アミノ酸を常法に従って演算した。その結果を置換全配列の振動数値IIとして表6に記載したが、0.015以下の数値は無視する。但し、この場合も、置換に用いるアミノ酸残基はロイシン以外の19種類のアミノ酸の何れでも構わない。

## 【0028】

【表6】

## ガンマイインターフェロン

全配列由来の振動数値	(256)	0.3594	0.4023	0.0469	0.1484	0.0781
活性部位由来の振動数値	(256)	0.0234	0.3594	0.3633	0.0273	0.4023
置換全配列の振動数値I	(256)	0.3594	0.0469	0.0781	0.1484	0.0117
置換全配列の振動数値II	(256)	0.0234	0.3594	0.3633	0.4023	0.0273

## 【0029】

表6から、0.0234、0.0273及び0.3633のピークがガンマイインターフェロンのC末端領域由来のピークであることが強い。既知文献 (V. Velićkovic et al, Cancer Biochem. Biophys., 9, 139-148 (1987); I. Csic, IE

EE, 41, 1101-1114 (1994)) によれば、インターフェロン全分子に由来する振動数値は  $0.082 \pm 0.008$  である。然しながら、本発明の活性部位由来の振動数値はピークの優先性に基づけば、 $0.0234$  か  $0.3594$  がガンマインターフェロンの抗ウイルス活性に関与しているのだろう。既知文献から、 $0.0234$  の数値はヘモグロビンの数値と一致する。

#### 【0030】

セリンプロテアーゼ群として分類されているウロキナーゼ (UK) とサブチリシンの酵素は生物活性が同じで、活性サイトも同定されている。ヴェルコヴィッチ等の方法に従えば、これらの全アミノ酸周波数スペクトルをクロスすれば特異的振動数が得られるはずである。図12に示したように、それらの全アミノ酸周波数スペクトルの特異的振動数として  $0.4141$  が得られた。この値はヴェルコヴィッチ等が既に報告 (V. Veljkovic et al, Cancer Biochem. Biophys., 9, 139-148 (1987); I. Cosic, IEEE, 41, 1101-1114 (1994)) している  $0.3770 \pm 0.004$  (プロテアーゼの特異的振動数値を採用すると) とは誤差範囲を考慮しても一致しない。従って、特異的振動数値を文献値に近づけるには更に多数の別のプロテアーゼを演算しなければならないだろう。

#### 【0031】

本発明者は本発明方法で、UKとサブチリシンを検討した。それらのアミノ酸配列は既にSWISS-PROTに登録されている。

第一段階として、UKの全アミノ酸配列を自己クロスすることにより、UKの全アミノ酸周波数スペクトル (図13) を求める。次いで、第二段階としてUKの3箇所の活性部位の活性部位周波数スペクトルとUKの全アミノ酸配列を全アミノ酸周波数スペクトルをクロスさせ、活性部位由来の振動数値を増幅した (図14)。第三段階として、UKに存在する活性部位領域をロイシンで置換した置換全アミノ酸周波数スペクトルと全アミノ酸周波数スペクトルをクロスし、図15のような活性部位由来の振動数値を減少させた前駆体の全アミノ酸周波数スペクトルが得られる。マゲイニンやカルシトニンと同じ条件でピークを選択し、整理すると表7になる。但し、この場合も、置換に用いるアミノ酸残基はロイシン以外の19種類のアミノ酸の何れでも構わない。

## 【0032】

## 【表7】

## ウロキナーゼ

全配列由来の振動数値 (512) 0. 0762 0. 1563 0. 0449 0. 4141 0. 4004

活性部位由来の振動数値 (512) 0. 3555 0. 3613 0. 3535 0. 3594 0. 1465

置換全配列由来の振動数値I (512) 0. 4141 0. 4102 0. 0449 0. 1016 0. 1582

## 【0033】

表7から、ウロキナーゼの活性部位由来の振動数値として0. 3535～0. 3613が得られた。これらの数値は既知文献 (V. Veljkovic et al, Cancer Biochem. Biophys., 9, 139-148 (1987); I. Cosic, IEEE, 41, 1101-1114 (1994)) の記載値 (0. 3770±0. 004) と若干異なる。更に、ウロキナーゼ (UK) とサブチリシンの全アミノ酸配列から求めた振動数値 (0. 4141) は明らかに活性部位由来ではないことが分かる。

## 【0034】

一方、微生物由来のセリンプロテアーゼとして知られているサブチリシンについて、ウロキナーゼと同じ方法で検討した (図16、17、18)。その結果を表8に示す。

## 【0035】

## 【表8】

## サブチリシン

全配列由来の振動数値 (512) 0. 0410 0. 2207 0. 4141 0. 0586 0. 0332

活性部位由来の振動数値 (512) 0. 3574 0. 3535 0. 4277 0. 3555 0. 4297

置換全配列由来の振動数値I (512) (0. 0039) 0. 0449 0. 0410 0. 4141 0. 0332

## 【0036】

表8から、0. 3535～0. 3574と0. 4277～0. 4297にサブチリシンの活性部位由来の振動数値が存在している。特に、0. 3535～0. 3574の数値はウロキナーゼの活性部位由来の振動数値 (0. 3535～0. 3594) と重複している。これら2つの酵素蛋白質がアミノ酸配列には相同性がないにも拘わらずセリンプロテアーゼとして分類されていることが理解できる。サブチリシンのもう1つの振動数値 (0. 4277～0. 4297) はキナー

ゼの数値（0.4296±0.003）に近い。サブチリシンにはプロテアーゼ活性とエステラーゼ活性は知られているがキナーゼ活性は不明である。

## 【0037】

## 【発明の実施の形態】

従って、発明の実施の形態として、PIR、SWISS-PROT又はEMBL等に登録された任意の蛋白質（又は核酸配列）の活性部位を既知モチーフ [A. Bairoch et al., Nucleic Acids Res., 20, 2019-2022 (1992) ; N. Numao et al, Biol. Pharm. Bull., 16, 1160-1163 (1993)等]、好ましくはGT、AS、GA、ID、TR、SR、LK、T、XW、VXH、MXH、WXP、AXC、GXS又はその逆配列 (G、T、A、S、I、D、R、L、K、W、V、H、M、P、C、Xはグリシン、スレオニン、アラニン、セリン、イソロイシン、アスパラギン酸、アルギニン、ロイシン、リジン、トリプトファン、バリン、ヒスチジン、メチオニン、プロリン、システイン及び20種類のアミノ酸の何れかを意味する) のうち何れか1つ以上に基づいて推定し、そのモチーフを含む2～64個のアミノ酸配列（又は6～192個の核酸配列）、好ましくは15～55個のアミノ酸配列（又は45～165個の核酸配列）をヴェルコヴィッチ等の方法 [V. Veljkovic et al, Cancer Biochem. Biophys., 9, 139-148 (1987) ; I. Cosic, IEEE, 41, 1101-1114 (1994)] に従って計算すれば活性部位周波数スペクトルが得られる。但し、蛋白質の活性部位は、別法として20種類のアミノ酸の出現頻度定数からも推測可能であることが既に示唆されている [A.E. Gabrieli et al, CABIOS, 6, 1-3 (1990) ; N. Numao et al, Biol. Pharm. Bull., 16, 1160-1163 (1993)] ので、この方法から活性部位を推定し、活性部位周波数スペクトルを求めることもできる。従って、本発明における既知モチーフとは上記の何れかの方法又はそれらの組み合わせを意味するものである。

## 【0038】

一方、その任意の蛋白質の全アミノ酸配列に対する全アミノ酸周波数スペクトルもヴェルコヴィッチ法等の方法 [V. Veljkovic et al, Cancer Biochem. Biophys., 9, 139-148 (1987) ; I. Cosic, IEEE, 41, 1101-1114 (1994)] に従って計算できる。活性部位周波数スペクトルと全アミノ酸周波数スペクトルをクロスさせれば、その蛋白質の活性部位に由来する特異的振動数値を有するピークを決定

できる。そして、その特異的振動数値を生物・機能活性に関する既知蛋白質データから検索することにより任意の蛋白質の新しい生物・機能活性を予測できる。更に、任意の蛋白質の活性部位領域についても通常1個所以上あるので、本発明で記載した場所だけが限定されたものではないことも明らかである。

## 【0039】

更に詳しく活性部位周波数スペクトルの求め方について記載すると、活性部位に関与する既知モチーフを1つ以上含有する2~64個のアミノ酸残基からなる活性部位領域を選択し、その領域のアミノ酸残基全て同一のアミノ酸残基で置換するか又は2~64個のアミノ酸残基からなる活性部位以外の領域全てを同一のアミノ酸残基で置換する。その局的に置換された全アミノ酸配列（以下、置換全アミノ酸配列と称す）のアミノ酸残基にEIIP指標数を付与したEIIP列をDFTすることによって周波数スペクトル（以下、置換全アミノ酸周波数スペクトルと称す）を求め、これを全アミノ酸周波数スペクトルとクロスさせれば、その蛋白質の活性部位に由来する特異的振動数値を有するピークを決定できるので、上記の活性部位周波数スペクトルの求め方だけに限定されるものではない。

## 【0040】

加えて、活性部位周波数スペクトルの求め方について記載すると、任意の蛋白質の活性部位に関与する既知モチーフを1つ以上含有する2~64個のアミノ酸残基からなる活性部位領域を選択し、その領域のアミノ酸残基全て同一のアミノ酸残基に置換した置換全アミノ酸配列のアミノ酸残基にEIIP指標数を付与し、得られたEIIP列をDFTすることによって得られた置換全アミノ酸周波数スペクトルと全アミノ酸周波数スペクトルをクロスさせれば、その活性部位由来の特異的振動数値の相対強度が減少するので、活性部位由来の特異的振動数値を選定するともできるので、上記の活性部位周波数スペクトルの求め方だけに限定されるものではない。

## 【0041】

任意の核酸配列から、遺伝暗号表に基づいて翻訳したしてときに活性部位に関与する既知モチーフを1つ以上含有する6~192個の核酸残基からなる核酸配列を選択して、その領域の核酸残基にEIIP指標数を付与したEIIP列をDFTするこ

とによって核酸活性部位周波数スペクトルを求める。他方、全核酸配列の核酸残基にEIIP指標数を付与したEIIP列をDFTすることによって得られた全核酸周波数スペクトル（以下、全核酸周波数スペクトルと称す）を求める。核酸活性部位周波数スペクトルと全核酸周波数スペクトルをクロスして、核酸活性部位由来の特異的振動数値（以下、核酸特異的振動数値と称す）を選定し、それを既知データベースから検索できれば、任意の核酸配列の新しい生物・機能活性を予測するすることも出来るので、本発明の請求範囲は核酸配列に応用できることも明らかである。

#### 【0042】

本発明方法によって予測した任意の蛋白質の機能・活性又は整理、分類した一覧表は決して本発明の例示のみに限定されるわけではないことも明らかである。

#### 【0043】

更に、本発明方法の基本概念によって作成された一覧表に基づいて、任意の蛋白質や核酸配列と所望の相互作用が期待できるような新しい蛋白質や核酸配列を探すことも容易に推測できるので本発明の基本概念を使う限り本請求範囲であることも明らかである。

#### 【0044】

予測した蛋白質又は核酸配列の機能・活性の用途については、単に治療薬としての農薬や医薬品等だけを意味しているのではなく、遺伝病や疫病などの予防・診断法をも含有している。何故ならば、本発明で利用したヴェルコヴィッチ等の演算方法 [V. Veljkovic et al, *Cancer Biochem. Biophys.*, 9, 139-148 (1987) ; I. Cosic, *IEEE*, 41, 1101-1114 (1994)] 及び本発明者の活性部位に関する予測法 (N. Numao et al, *Biol. Pharm. Bull.*, 16, 1160-1163 (1993)) はアミノ酸配列又は核酸配列中に存在すると思われる根源的な原理の探索に基づいているからである。

#### 【0045】

本発明方法を作成するに当たり、既知モチーフを含有しないアミノ酸配列を非活性部位領域として定義して、それを上記の活性部位領域と同じように処理すると、全アミノ酸周波数スペクトルの中からその蛋白質の特異的振動数値を絞り込

めるので、本発明の請求項は活性部位領域から方法のみを限定している訳ではない。更に、アミノ酸配列の方向性をN→CからC→Nに変えて、核酸配列の方向性を5' → 3' を3' → 5' に変えてもヴェルコヴィッチ等の方法で得られる結果は全く同じ結果が得られることが分かっているので、それらの配列方向性が限定されている訳ではない。

以下、本発明を実施例により具体的に説明するが本発明はこれらに限定されるものではない。

#### 【0046】

##### 【実施例】

###### (実施例1) プリオンの機能予測

正常プリオン蛋白質の生物活性は今まで報告されていない (S.B. Prusiner, Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.A., 95, 13363-13383 (1997); D. Westway et al., Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.A., 95, 11030-11031 (1998))。そのアミノ酸配列は既にSWISS-PROTに登録されている。プリオン蛋白質の機能部位の同定は容易ではないが、蛋白質機能部位に関する既知情報 (N. Numao et al, Biol. Pharm. Bull., 16, 1160-1163 (1993)) に記載されたモチーフに基づけばプリオン蛋白質のアミノ酸番号110付近にモチーフ (GT, MXH) が存在するので、その領域 (アミノ酸番号109～130) 周辺が活性部位領域の1つであることが容易に推測できる (またアミノ酸番号180付近も活性部位領域と推定できる)。上記の方法に従って、プリオン全アミノ酸周波数スペクトルの自己クロス、プリオン全アミノ酸周波数スペクトルと活性部位の周波数スペクトルとのクロス、プリオン全アミノ酸周波数スペクトルと活性部位領域のアミノ酸残基をロイシンで置換した置換プリオン全アミノ酸周波数スペクトルとのクロスを行った (図19, 20, 21)。結果を表9に示す。

#### 【0047】

## 【表9】

## プリオン

全配列由来の振動数値	(256)	0. 0039	0. 2617	0. 3164	0. 4961	0. 3789
活性部位由来の振動数値	(256)	0. 2617	0. 2539	0. 3164	0. 0234	0. 0313
置換全配列由来の振動数値	I (256)	0. 0039	0. 2617	0. 4961	0. 3614	0. 1367

## 【0048】

表9に示したように、0. 2617と0. 2539のピークが他のピークよりも強い。0. 2617のピークは全配列と非活性領域でも比較的優先的であり、このピークに依存する生物活性はプリオン分子全体から発現する活性かもしれない。この0. 2617の振動数値はオキザロアセテートに対して脱炭酸活性を発現する14個のアミノ酸残基からなるオキザルディー1 (N. Numao et al, Biol. Pharm. Bull., 22, 73-76 (1999)) の全周波数スペクトル (0. 2500) やマゲイニン2の全周波数スペクトルの1つ (0. 2598) に近い。そこで、プリオンとオキザルディー1の全アミノ酸周波数スペクトルをクロスしたところ、図20と相似のスペクトルが得られた。従って、アミノ酸番号109～131の中に存在する106～126の合成ペプチドばかりでなく、正常なプリオン蛋白質分子全体の生物活性の1つとして脱炭酸活性が期待できる。加えて、既知文献に基づくと振動数値0. 0234はヘモグロビン類似の酸素が絡む生物活性が期待できる。事実、プリオン蛋白質は銅結合蛋白質であり酸素反応に関与していることが報告されている。また、振動数値0. 3164からグルカゴン様生物活性も期待できる。

## 【0049】

## (実施例2) アミロイド蛋白質前駆体 (APP) の機能予測

3種類のAPPのうち、1つは751個のアミノ酸残基からなる蛋白質である (A. Ponte et al., Nature, 331, 525-527 (1988))。そのアミノ酸配列は既にSWISS-PROTに登録されている。APPの機能活性部位は蛋白質機能部位予測法 (N. Numao et al, Biol. Pharm. Bull., 16, 1160-1163 (1993))においてアミノ酸番号142、340、513、665付近に活性部位が存在することが既に予測されている。これらのうち、特にモチーフ (VXH, KL, GA) を含む領域 (アミノ酸番

号650～680)の生物活性は老人性痴呆症に絡んでいることが報告されている。本発明者はその領域の新しい生物・機能活性を探し出すために本方法を検討した。即ち、その領域を活性部位とし、上記の方法に従って検討した(図22、23、24)。結果を表10に示す。

## 【0050】

【表10】

**APP**

全配列由来の振動数値	(1024)	0.4277	0.3818	0.3701	0.0283
		0.3610			
活性部位由来の振動数値	(1024)	0.3203	0.2588	0.3701	0.3818
		0.3193			
置換全配列由来の振動数値1	(1024)	0.4277	0.3818	0.0361	0.3701
		0.0283			

## 【0051】

表10から、APPの活性部位由来の振動数値は0.3193～0.3203と0.2588であることが示唆された。0.3193～0.3203の数値は、既知文献に基づくとグルカゴン(0.3203±0.034)とリゾチーム(0.3281±0.004)に近い。0.2588の振動数値は実施例1で示したオキザロアセテートの脱炭酸活性をもつオキザルディー1の値と近いので、脱炭酸活性が期待できる。

## 【0052】

## (実施例3) APP中にあるプロテアーゼ阻害活性領域の活性予測

APPのアミノ酸番号で291～341付近のアミノ酸配列はセリンプロテアーゼ阻害剤と相同意が高いうことも既に知られている(A. Ponte et al., Nature, 331, 525-527 (1988))。事実、この領域の阻害活性が既に報告されている(N. Kitaguchi et al., Nature, 331, 530-532 (1988))が、その阻害活性は高くない。その実験結果を参考にして、アミノ酸番号289～364を活性部位領域として本方法を適用し、演算を試みた(図25)。その結果を表11に示す。

## 【0053】

## 【表11】

## APP中の289～364領域における活性予測

全配列由来の振動数値 (1024)	0. 4277	0. 3818	0. 3701	0. 0283
	0. 3610			
活性部位由来の振動数値 (1024)	0. 3818	0. 3203	0. 2587	0. 4277
	0. 3701			

## 【0054】

既知文献に従えば、セリンプロテアーゼ阻害剤の振動数値は0. 3555±0. 008なので、上記の上位2つの数値は一致しない。因みに、既知文献 (A. P onte et al., Nature, 331, 525-527 (1988)) に記載されたKunitz protease inhibitorsを演算したところ、その特異的な振動数値は0. 3281であった。上記の5つの数値のうち、0. 3203がそれに近い。従って、実施例2のAPPの650～680領域の新しい生物活性として阻害活性が期待できる。

## 【0055】

## (実施例4) ヒト成長ホルモン (hGH) の新しい生物活性予測

蛋白質合成、軟骨発育促進及び脂肪分解作用を有する217個のアミノ酸からなるヒト成長ホルモン (hGH) について、活性部位由来の新しい生物・機能活性が期待できるかを本方法で検討した。そのアミノ酸配列は既にSWISS-PROTに登録されている。その活性部位はアミノ酸番号205付近に活性部位が存在することが予測されている (N. Numao et al, Biol. Pharm. Bull., 16, 1160-1163 (1993)) ので、それを参考にし、本方法の適用法は実施例2と同様に処理した。即ち、アミノ酸番号197～217領域を活性部位として検討した (図26, 27, 28)。結果を表12に示す。

## 【0056】

## 【表12】

## ヒト成長ホルモン

全配列由来の振動数値 (256)	0. 1328	0. 4570	0. 4336	0. 1719	0. 3945
置換全配列の振動数値 I (256)	0. 1328	0. 0234	0. 2578	0. 4336	0. 4258
置換全配列の振動数値 II (256)	0. 0234	0. 1719	0. 1641	0. 1680	0. 0508

## 【0057】

表12から、hGHの活性部位依存の生物活性は0. 0234と0. 1641～

0. 1719の振動数値であるが、前者は活性部位領域以外の振動数値と重複する。このことから、活性は分子全体に由来する。事実、hGHには活性部位が3箇所存在することが既に知られている (B.C. Cunningham et al., Science, 244, 1081-? (1989))。然しながら、0. 1641～0. 1719の振動数値は鮑カルシトニンの活性部位由来の振動数値 (0. 1445～0. 1563) の近傍である。そこで、hGHの全アミノ酸周波数スペクトルと鮑カルシトニン前駆体周波数スペクトル又は32個のアミノ酸からなる鮑カルシトニン周波数スペクトルとクロスした(図29、図30)。その結果、0. 1328～0. 1719のピークの優先性が観察された。このことから、hGHと鮑カルシトニンには類似の生物活性が期待できる。

## 【0058】

## (実施例5) データベースの構築

蛋白質の活性部位に由来する生物機能に関するデータベースの構築法は色々考えられるが、本発明を見いだした過程や実施例で得られた結果(表1～12)を整理し、それらをコンピュータを使って検索し易いように構築すること。表13に一例を示す。

## 【0059】

## 【表13】

## マゲイニン

活性	0. 4355	0. 4336	0. 0645	0. 0664	0. 2598
----	---------	---------	---------	---------	---------

## 鮑カルシトニン

活性	0. 1563	0. 2734	0. 1445	0. 0469	0. 1523
----	---------	---------	---------	---------	---------

## ガンマインターフェロン

活性	0. 0234	0. 3594	0. 3633	0. 0273	0. 4023
----	---------	---------	---------	---------	---------

## ウロキナーゼ

活性	0. 3555	0. 3613	0. 3535	0. 3594	0. 1465
----	---------	---------	---------	---------	---------

## サブチリシン

活性	0. 3574	0. 3535	0. 4277	0. 3555	0. 4297
----	---------	---------	---------	---------	---------

## プリオン

活性	0. 2617	0. 2539	0. 3164	0. 0234	0. 0313
----	---------	---------	---------	---------	---------

## APP

活性(アミロイド領域)	0. 3203	0. 2588	0. 3701	0. 3818	0. 3193
-------------	---------	---------	---------	---------	---------

活性(阻害領域)	0. 3818	0. 3203	0. 2587	0. 4277	0. 3701
----------	---------	---------	---------	---------	---------

## ヒト成長ホルモン

活性	0. 0234	0. 1718	0. 1641	0. 1680	0. 0508
----	---------	---------	---------	---------	---------

## 【0060】

こうして本方法により種々の蛋白質の演算を行い、別途に活性評価の結果を加えていけば従来の蛋白質の機能予測より極めて優れた有用データベースが作製できることは容易に類推できる。従って、本発明記載以外の他の蛋白質へ本発明の基本概念を利用する限り、その結果に基づいたデータベースの構築は本請求の範囲にある。

## 【0061】

## (実施例6) データベースの活用

表13のデータベースからAPPの振動数値(0. 2588)は、プリオン蛋白

質の活性部位由来の振動数値（0.2539）とほぼ同じなので、APPにも脱炭酸活性が期待できる。APPの650～680領域とプリオン蛋白質にはセリンプロテアーゼ阻害活性が期待できる。カルシトニンとhGHには類似の生物活性が期待できる。hGHとガンマインターフェロンには類似の活性が期待できる。

【0062】

【発明の効果】

本方法は従来のランダム法に近い活性評価法よりも、予め既知の蛋白質と核酸配列データベースに基づいて、任意の蛋白質や核酸配列の新しい機能活性を予測できるので、極めて有用である。

【図面の簡単な説明】

【図1】

本発明の演算方法例を示す図である。

【図2】

マゲイニン2前駆体の自己クロススペクトルを示す図である。

【図3】

マゲイニン2前駆体とマゲイニン2のクロススペクトルを示す図である。

【図4】

マゲイニン2前駆体と221-233をロイシンで置換したマゲイニン2前駆体のクロススペクトルを示す図である。

【図5】

鮭カルシトニン前駆体の自己クロススペクトルを示す図である。

【図6】

鮭カルシトニン前駆体と鮭カルシトニンとのクロススペクトルを示す図である

【図7】

鮭カルシトニン前駆体と鮭カルシトニン前駆体の83-114をロイシンで置換したロイシンで置換した鮭カルシトニン前駆体のクロススペクトルを示す図である。

【図8】

鮭カルシトニン前駆体と鮭カルシトニン前駆体の83-114以外領域をロイシンで置換した鮭カルシトニン前駆体のクロススペクトルを示す図である。

【図9】

ガンマインターフェロンの自己クロススペクトルを示す図である。

【図10】

ガンマインターフェロンとその活性部位領域(132~162)とのクロススペクトルを示す図である。

【図11】

ガンマインターフェロンと活性部位領域(132~162)以外領域をロイシンで置換したガンマインターフェロンのクロススペクトルを示す図である。

【図12】

ウロキナーゼとサブチリシンとのクロススペクトルを示す図である。

【図13】

ウロキナーゼの自己クロススペクトルを示す図である。

【図14】

ウロキナーゼとその活性部位領域とのクロススペクトルを示す図である。

【図15】

ウロキナーゼとその活性部位領域のアミノ酸残基全てをロイシンで置換したウロキナーゼのクロススペクトルを示す図である。

【図16】

サブチリシンの自己クロススペクトルを示す図である。

【図17】

サブチリシンとその活性部位領域とのクロススペクトルを示す図である。

【図18】

サブチリシンとその活性部位領域のアミノ酸残基全てをロイシンで置換したサブチリシンとのクロススペクトルを示す図である。

【図19】

プリオン蛋白質の自己クロススペクトルを示す図である。

【図20】

プリオン蛋白質とプリオン蛋白質の109-131領域とのクロススペクトルを示す図である。

【図21】

プリオン蛋白質とその109-131領域のアミノ酸残基全てをロイシンで置換したプリオン蛋白質とのクロススペクトルを示す図である。

【図22】

アミロイド蛋白質前駆体の自己クロススペクトルを示す図である。

【図23】

アミロイド蛋白質前駆体とその650-680領域とのクロススペクトルを示す図である。

【図24】

アミロイド蛋白質前駆体とその650-680領域のアミノ酸残基全てをロイシンで置換したアミロイド蛋白質前駆体とのクロススペクトルを示す図である。

【図25】

アミロイド蛋白質前駆体とその289-364領域とのクロススペクトルを示す図である。

【図26】

ヒト成長ホルモンの自己クロススペクトルを示す図である。

【図27】

ヒト成長ホルモンとその190-217領域のアミノ酸残基全てをロイシンで置換したヒト成長ホルモンとのクロススペクトルを示す図である。

【図28】

ヒト成長ホルモンとその190-217領域以外のアミノ酸残基全てをロイシンで置換したヒト成長ホルモンとのクロススペクトルを示す図である。

【図29】

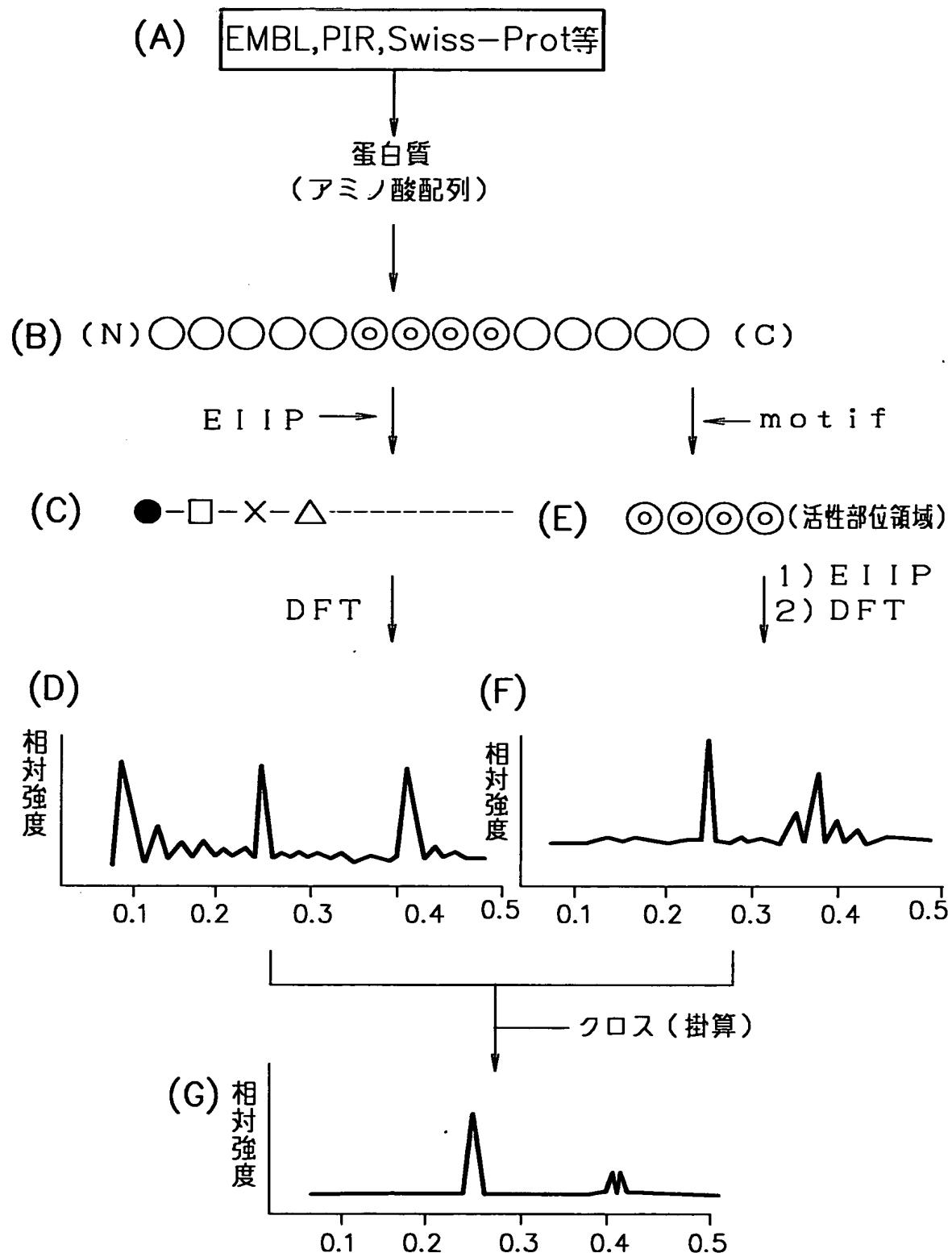
ヒト成長ホルモンと鮭カルシトニン前駆体とのクロススペクトルを示す図である。

【図30】

ヒト成長ホルモンと鮭カルシトニンとのクロススペクトルを示す図である。

【書類名】 図面

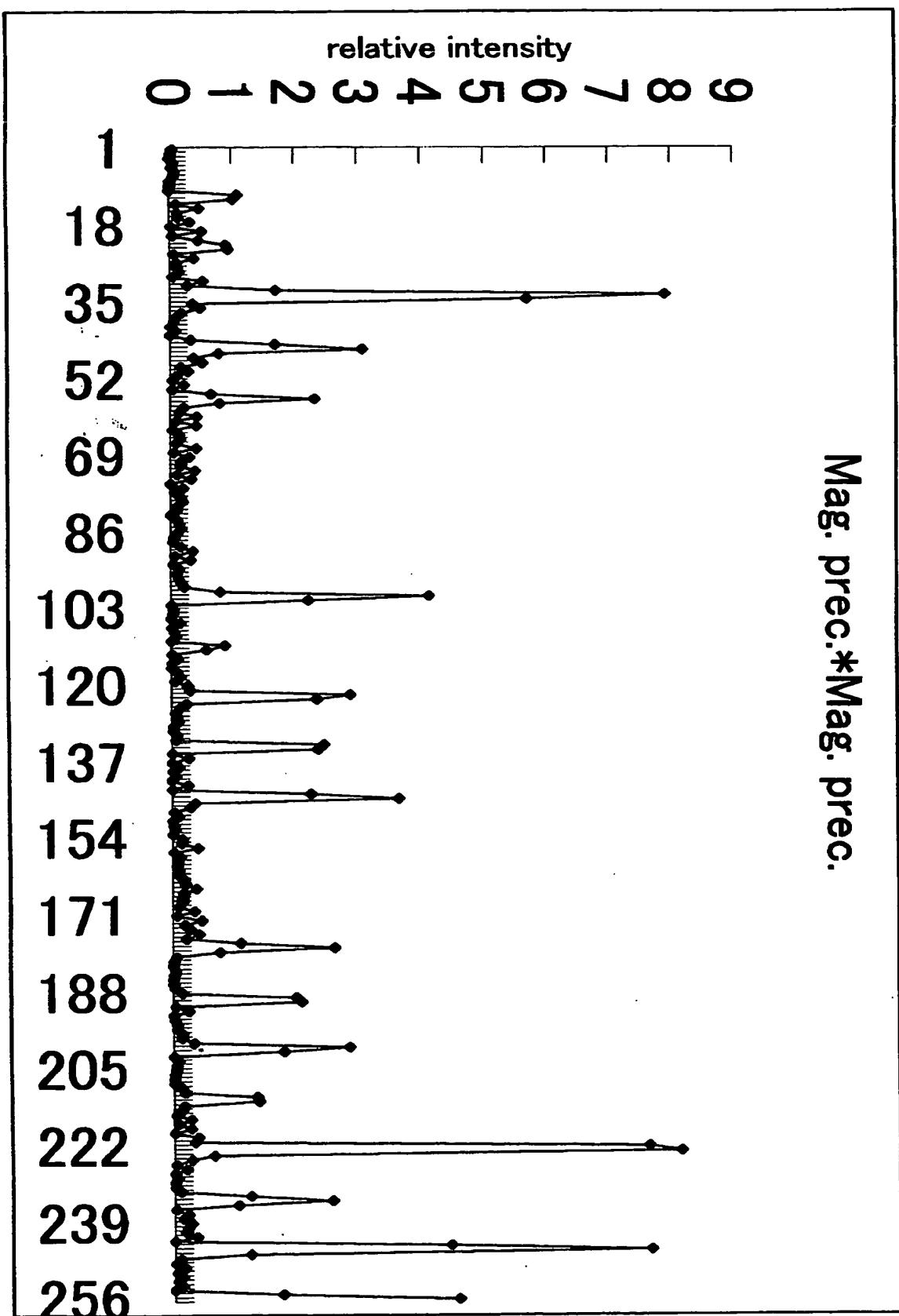
〔図1〕



特2000-206129

【図2】

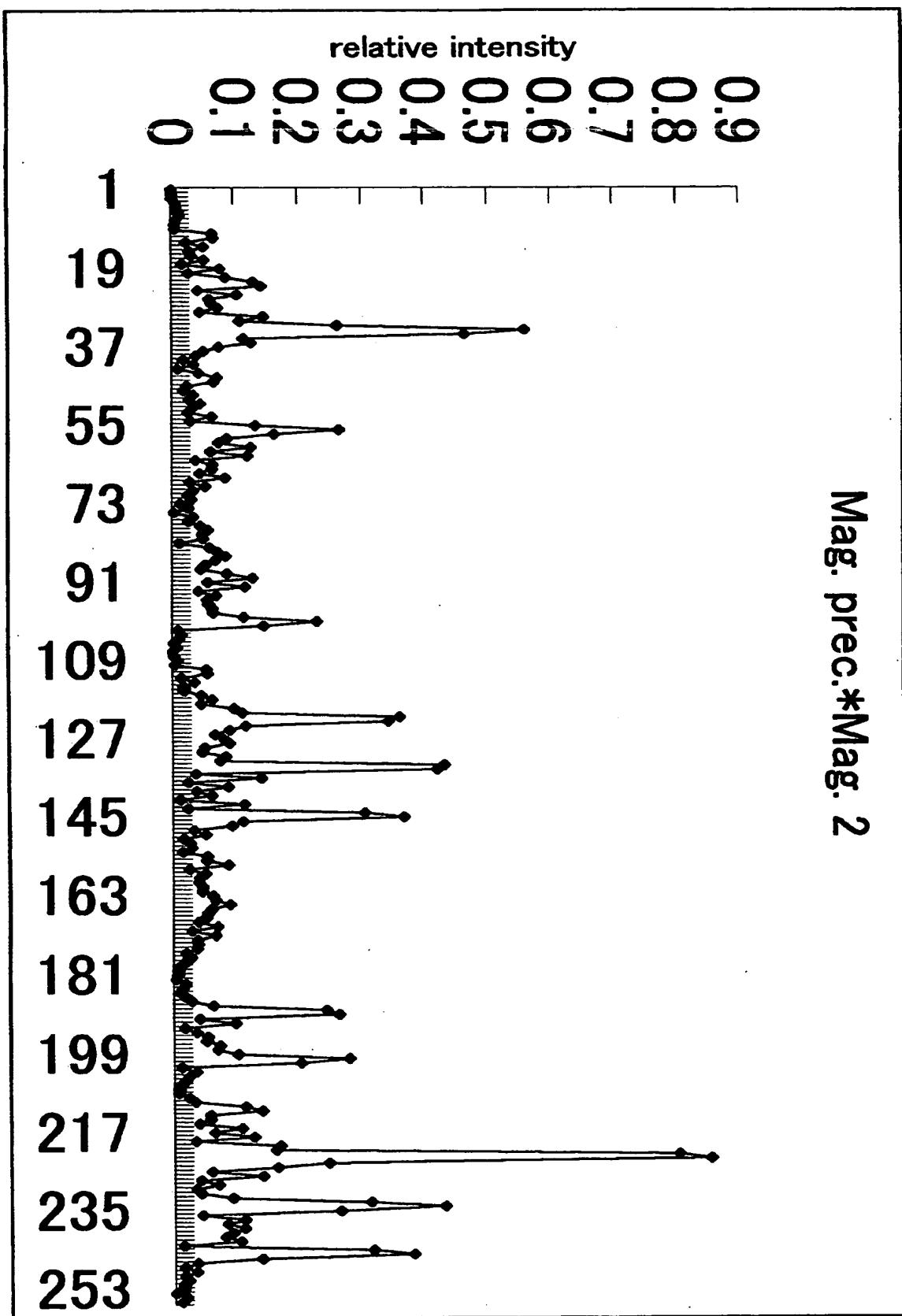
特2000-206129



特2000-206129

【図3】

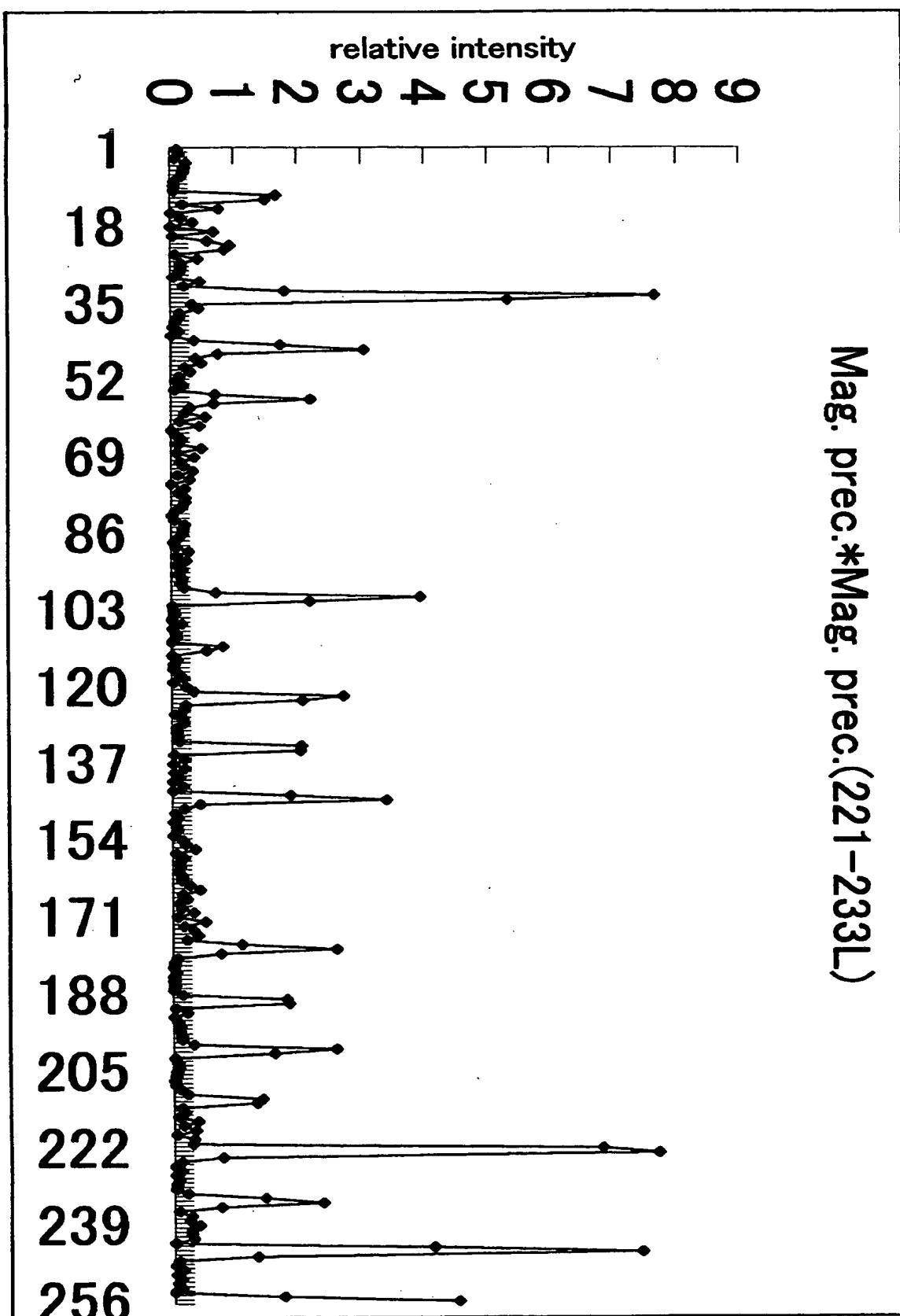
特2000-206129



特2000-206129

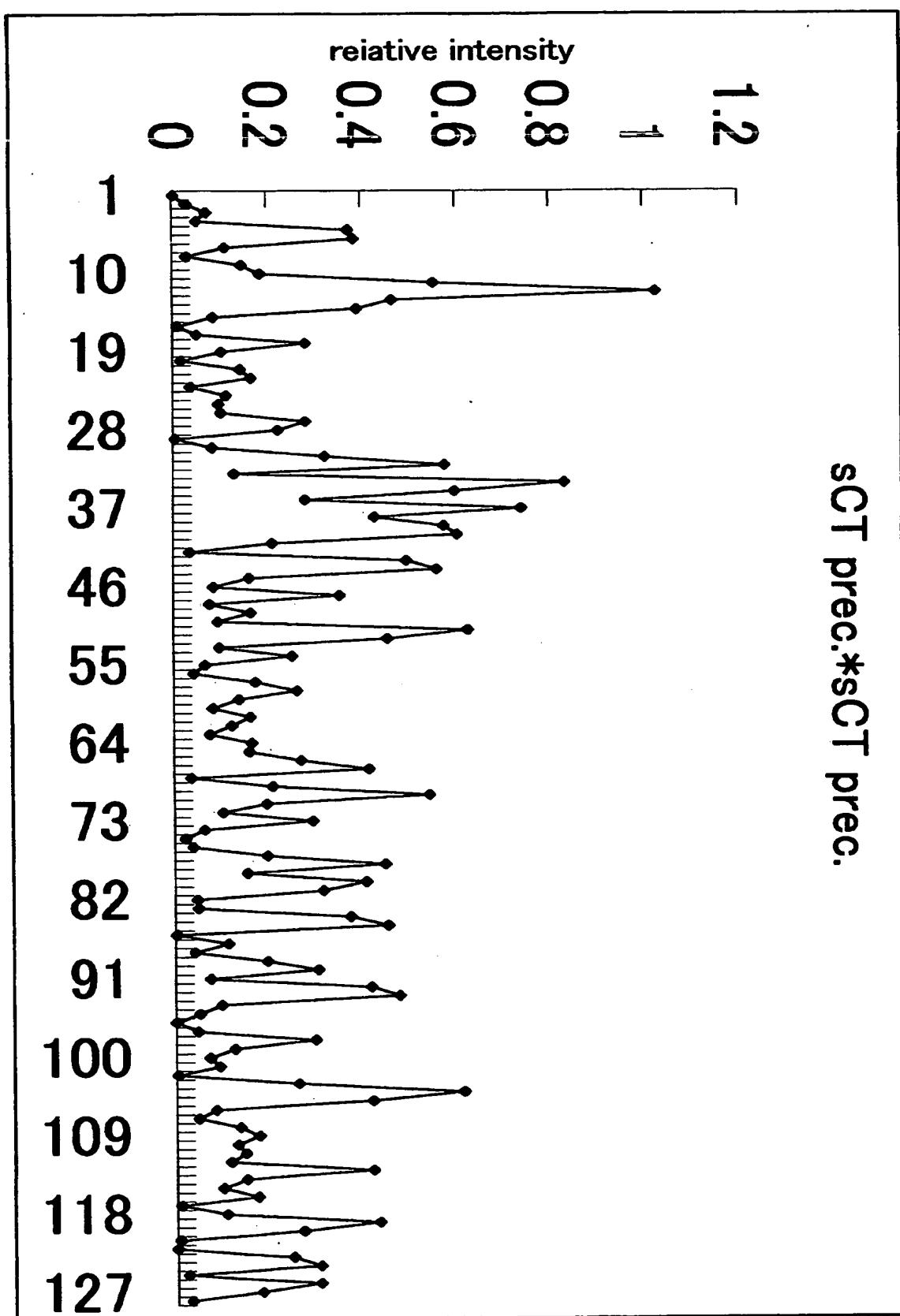
【図4】

特2000-206129



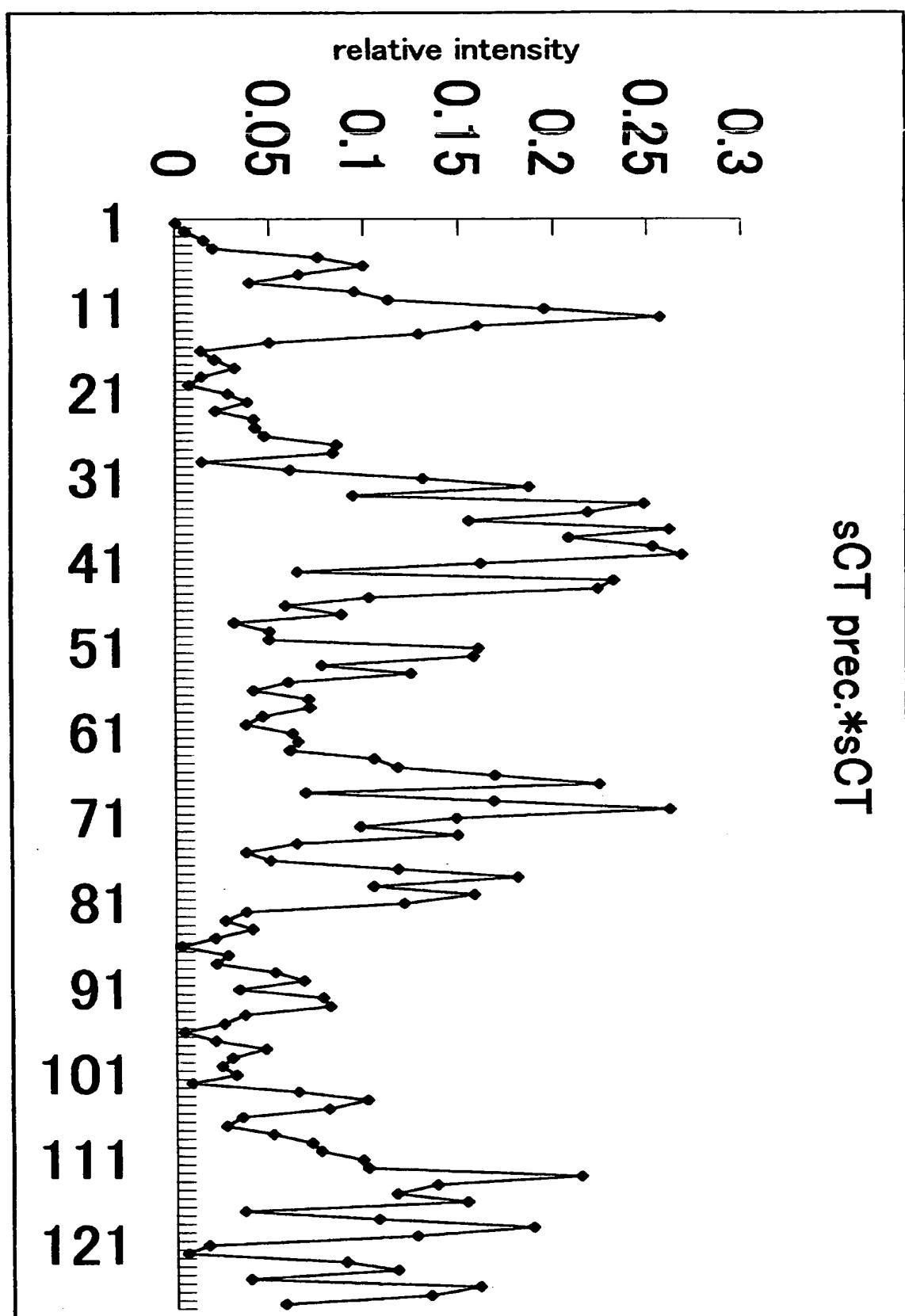
特2000-206129

【図5】



特2000-206129

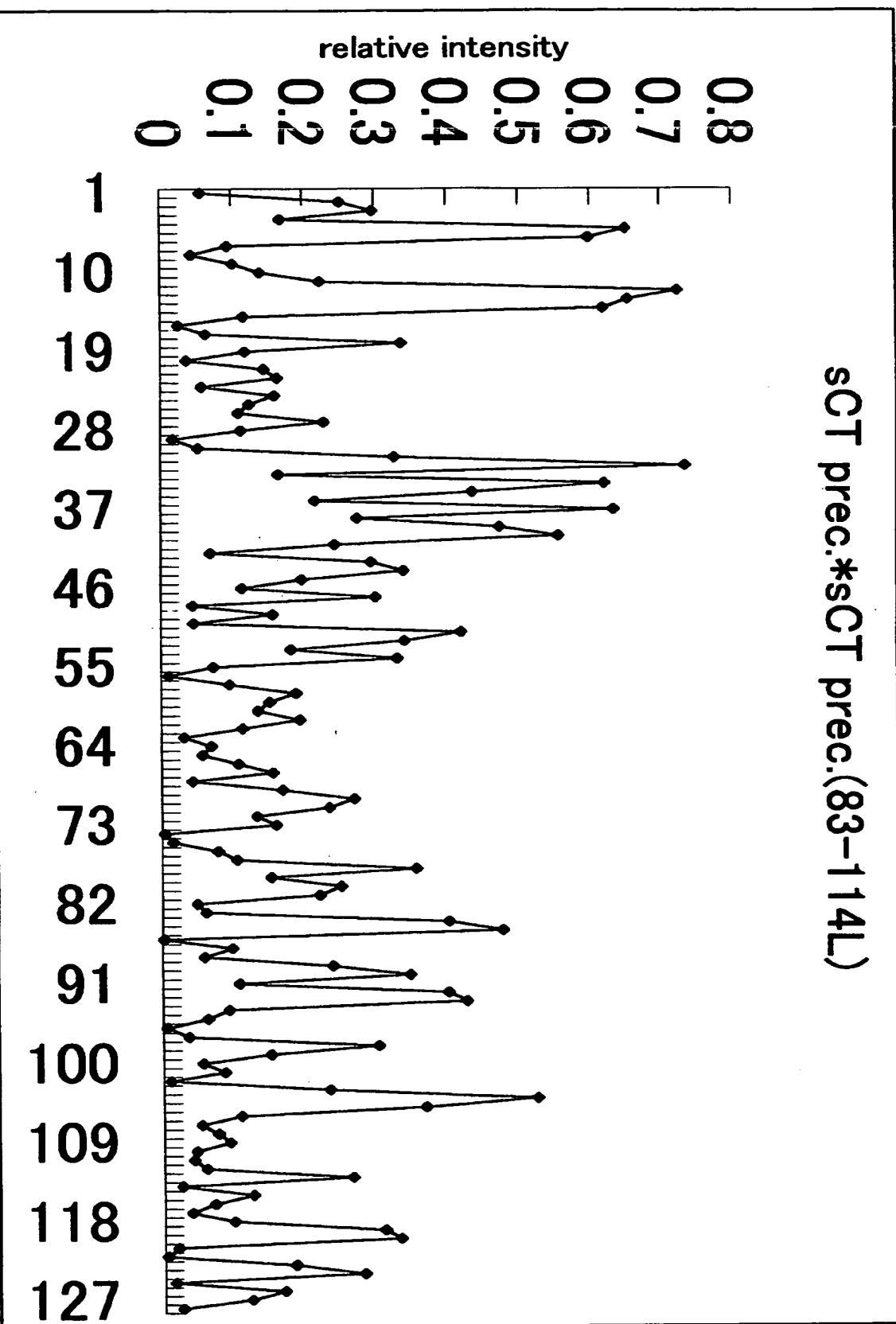
【図6】



特2000-206129

【図7】

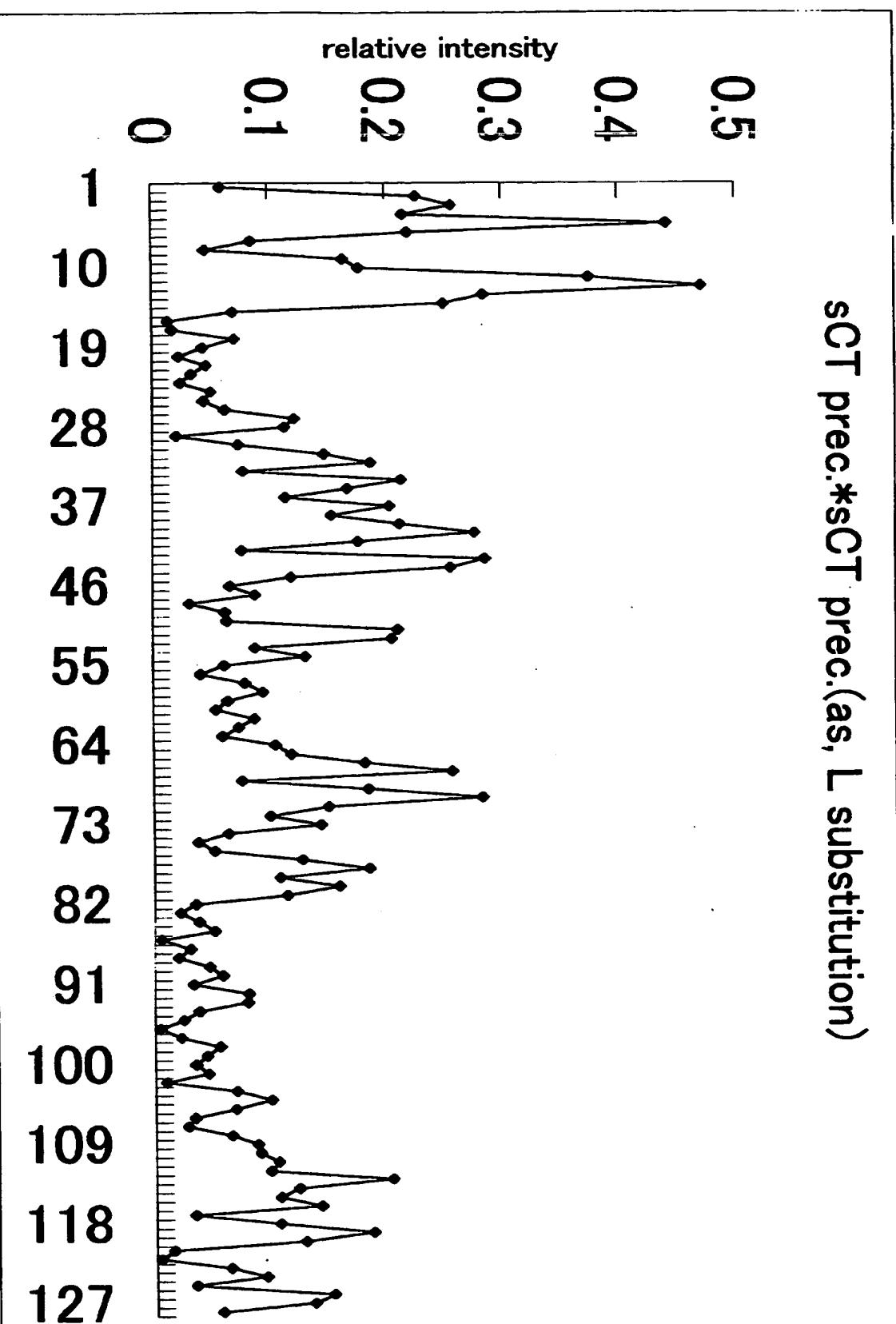
sCT prec.\*sCT prec.(83-114L)



特2000-206129

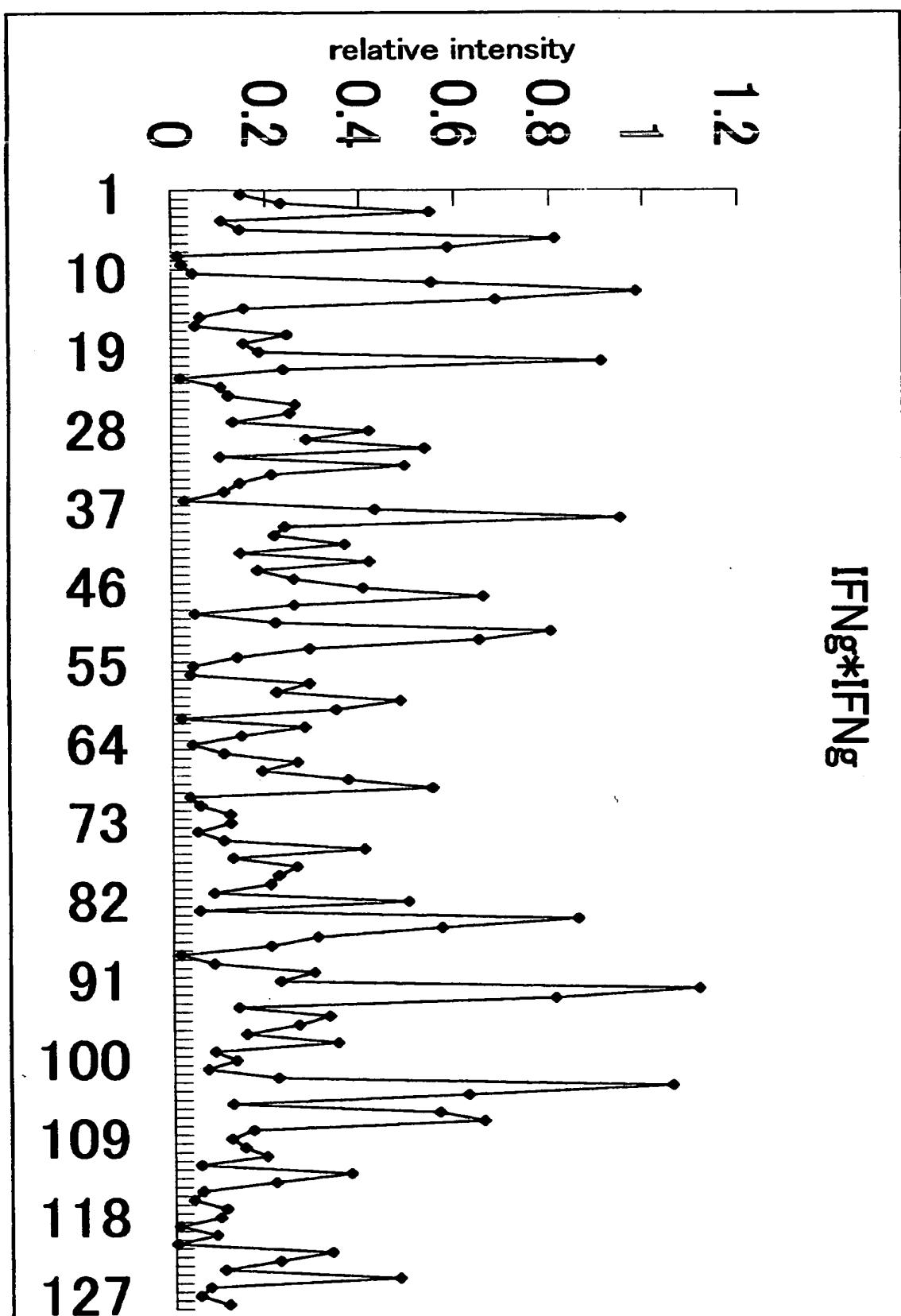
【図8】

sCT prec.\*sCT prec.(as, L substitution)



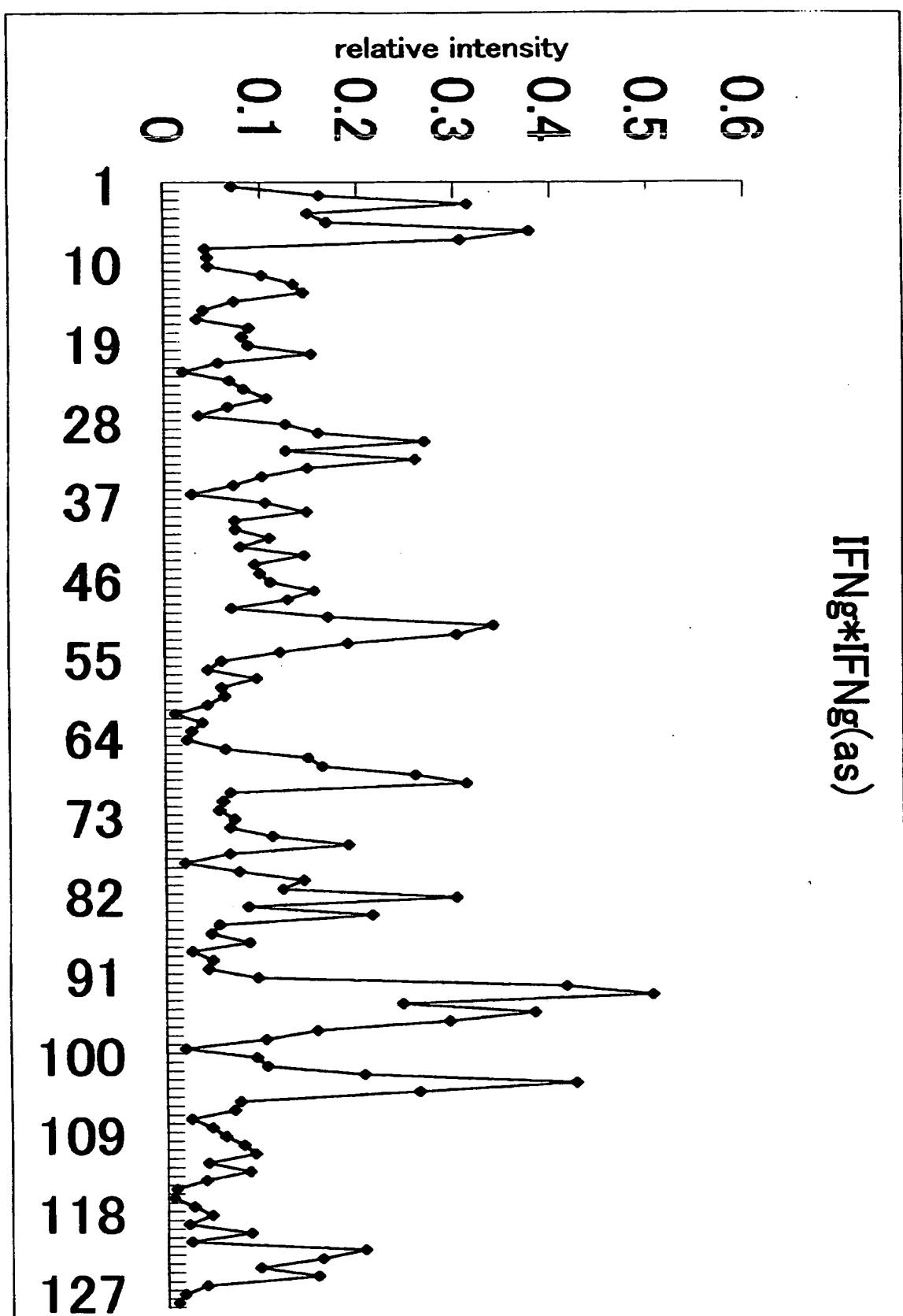
特2000-206129

【図9】



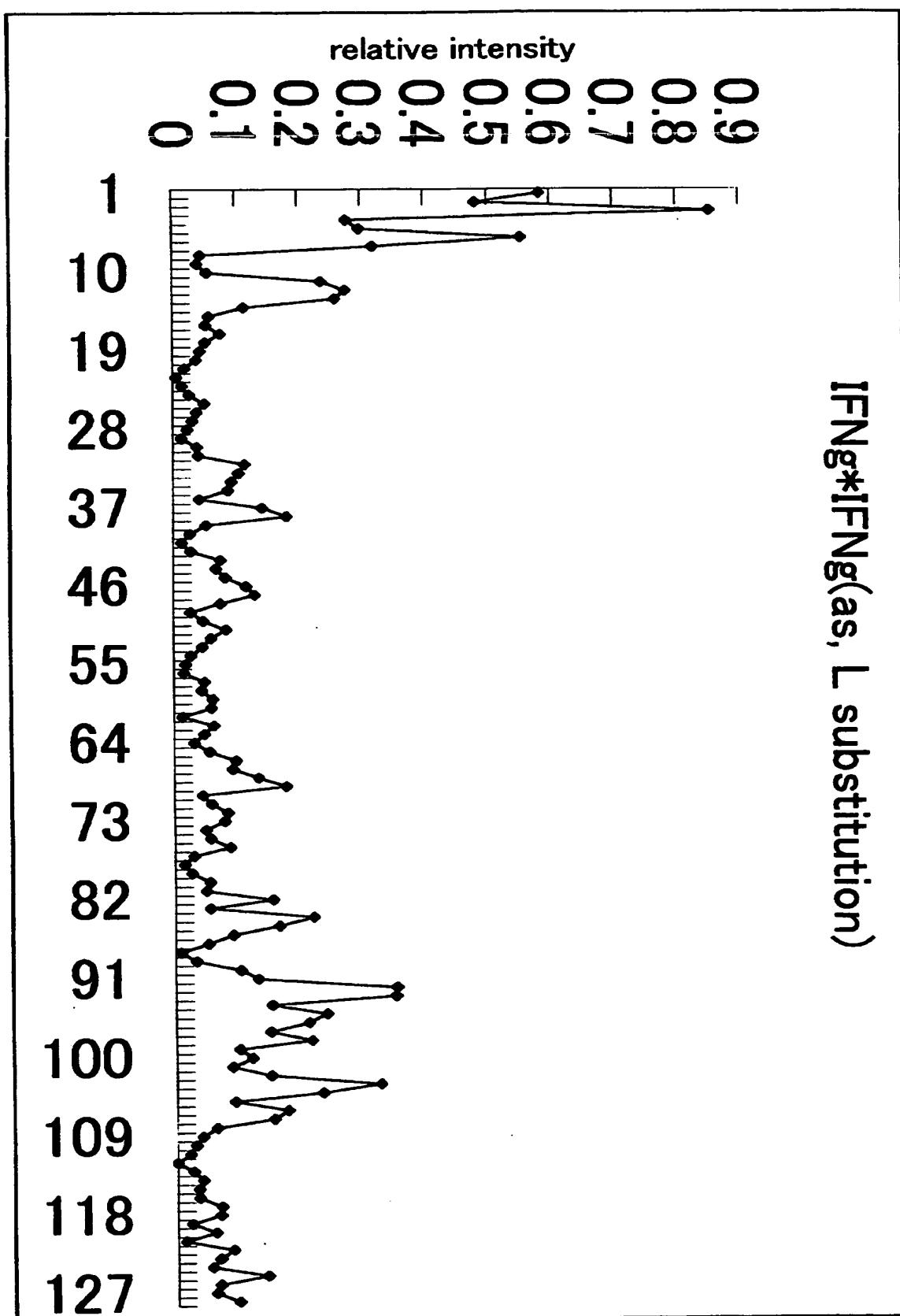
特2000-206129

【図10】



特2000-206129

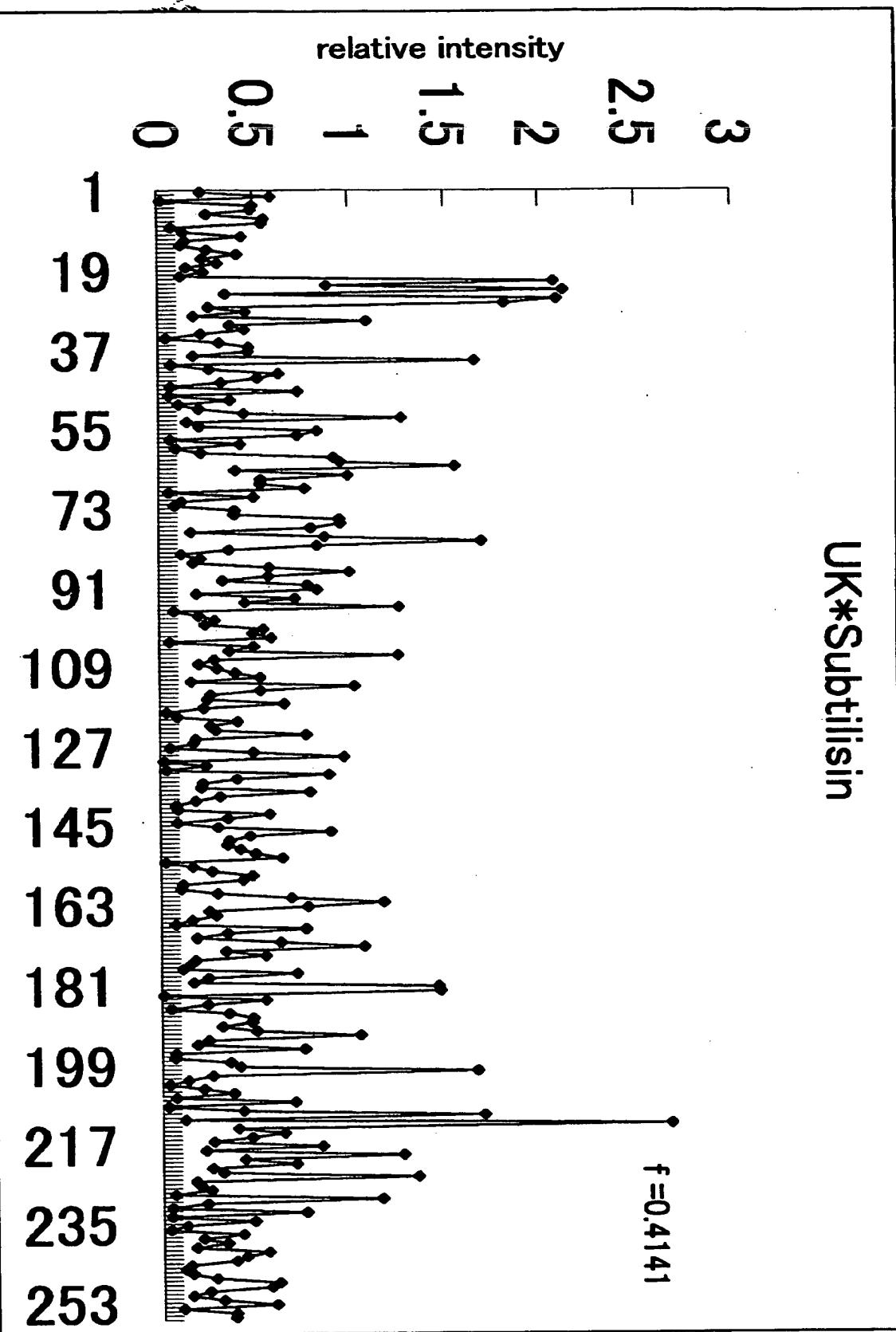
【図11】



特2000-206129

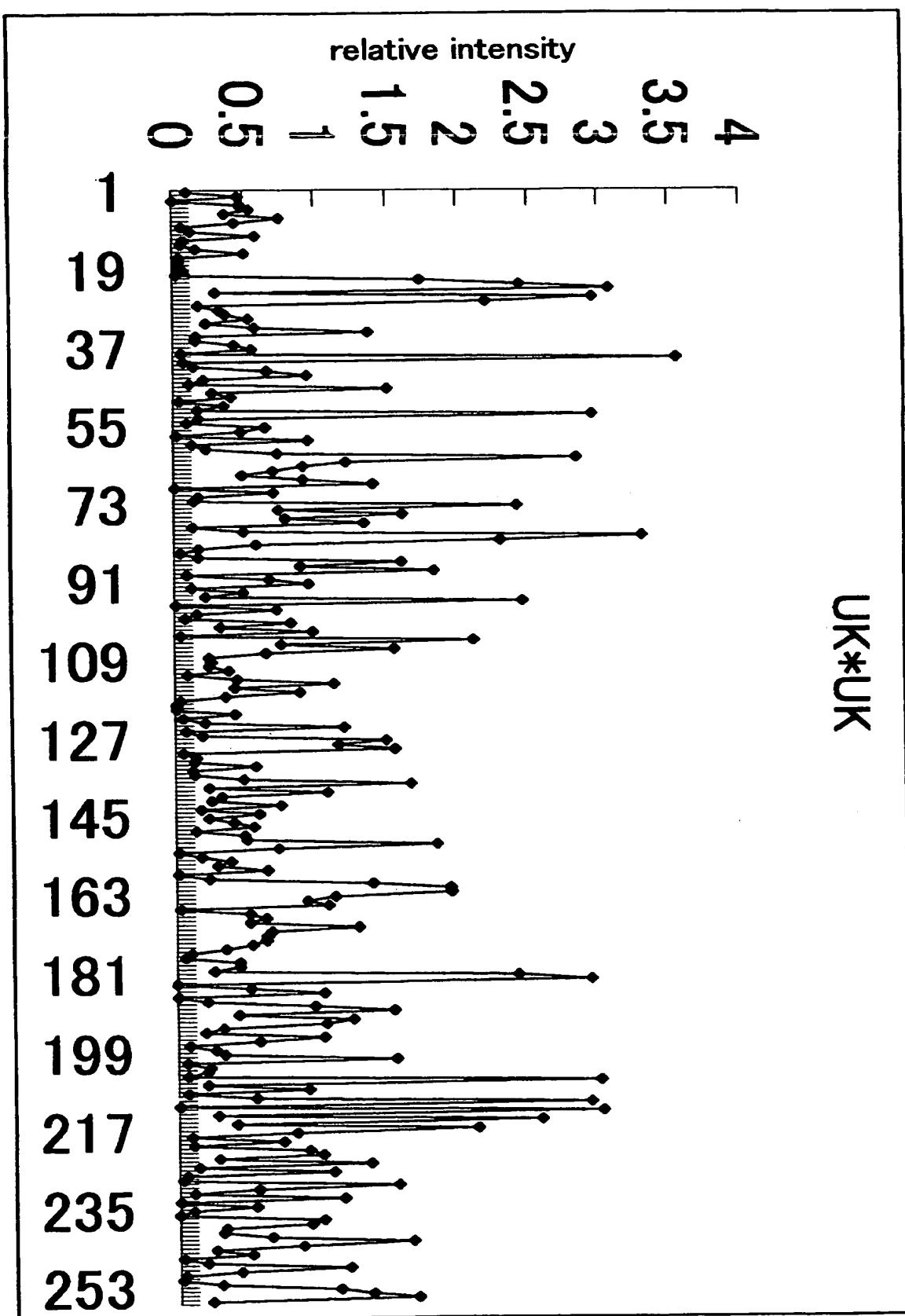
【図12】

UK\*Subtilisin

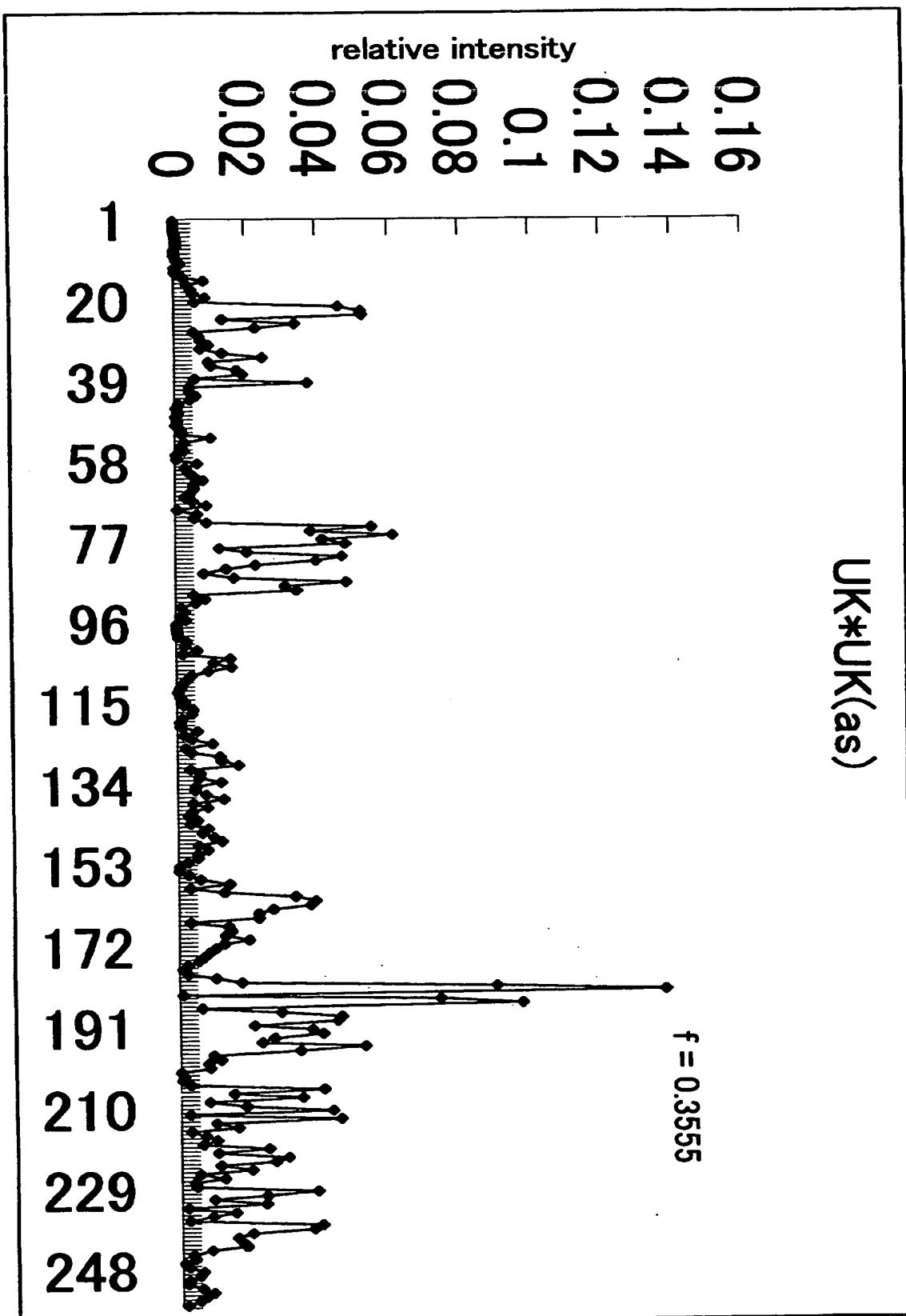


特2000-206129

【図13】

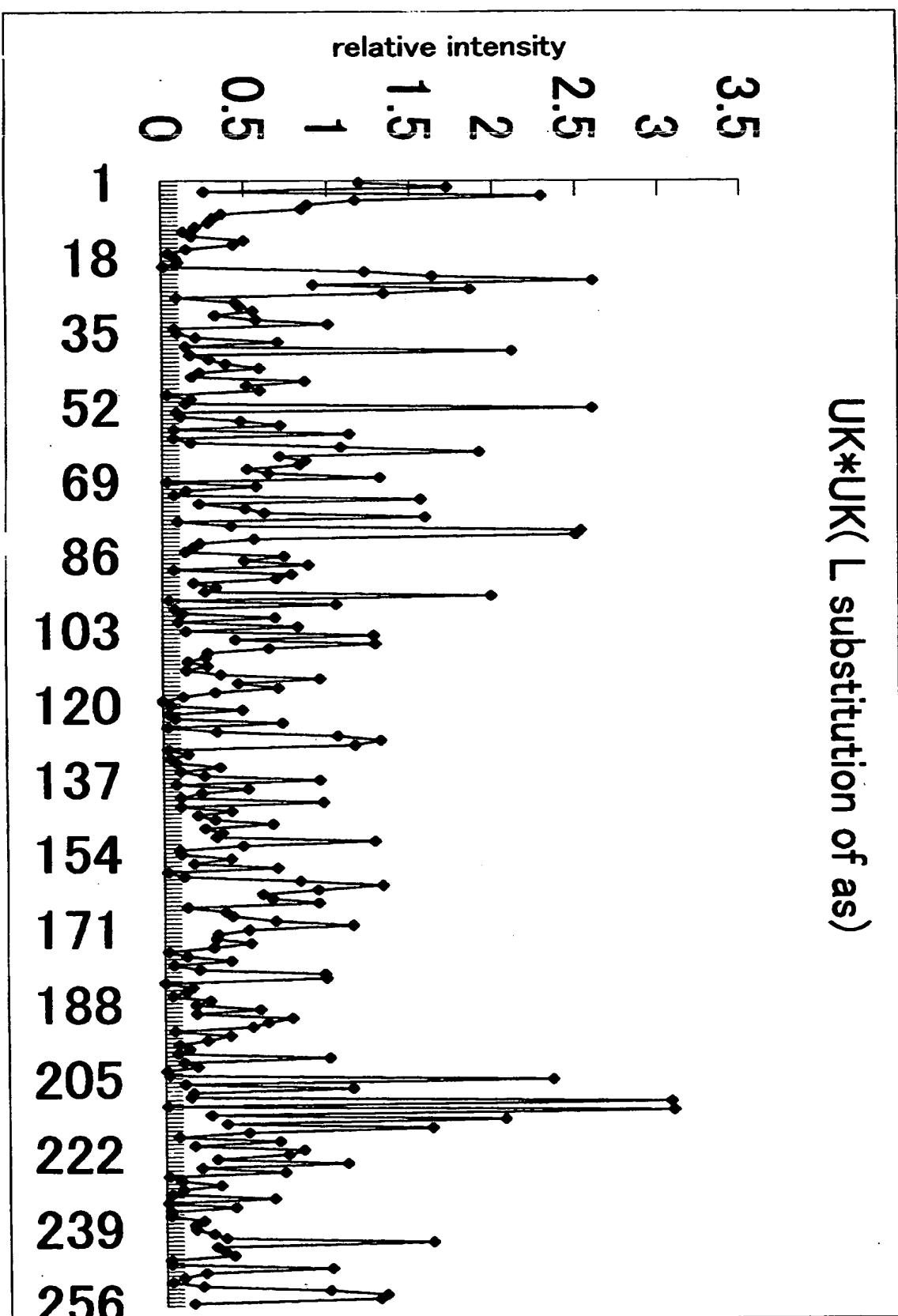


【図14】



特2000-206129

【図15】



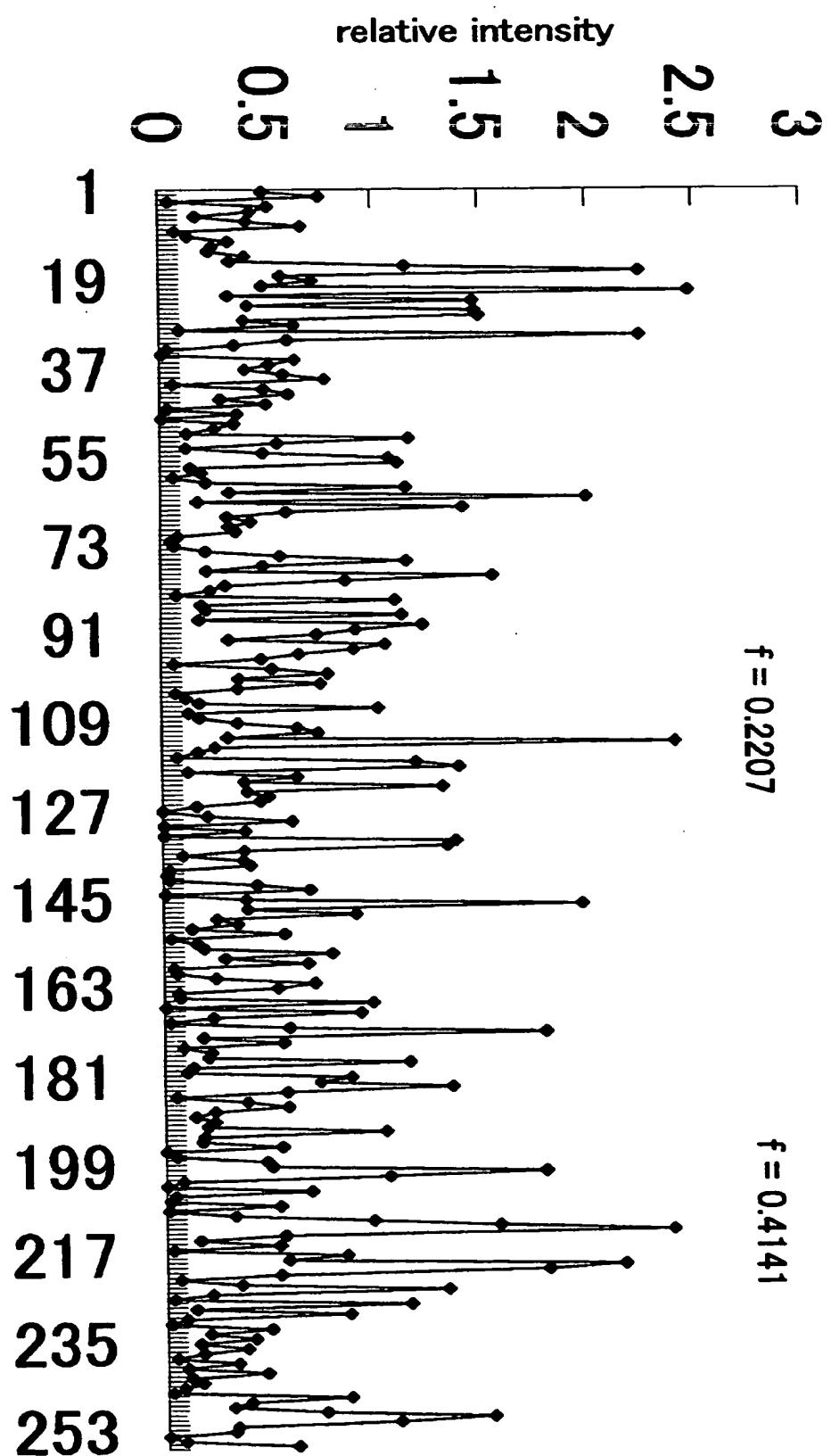
特2000-206129

【図16】

Subtilisin\*Subtilisin

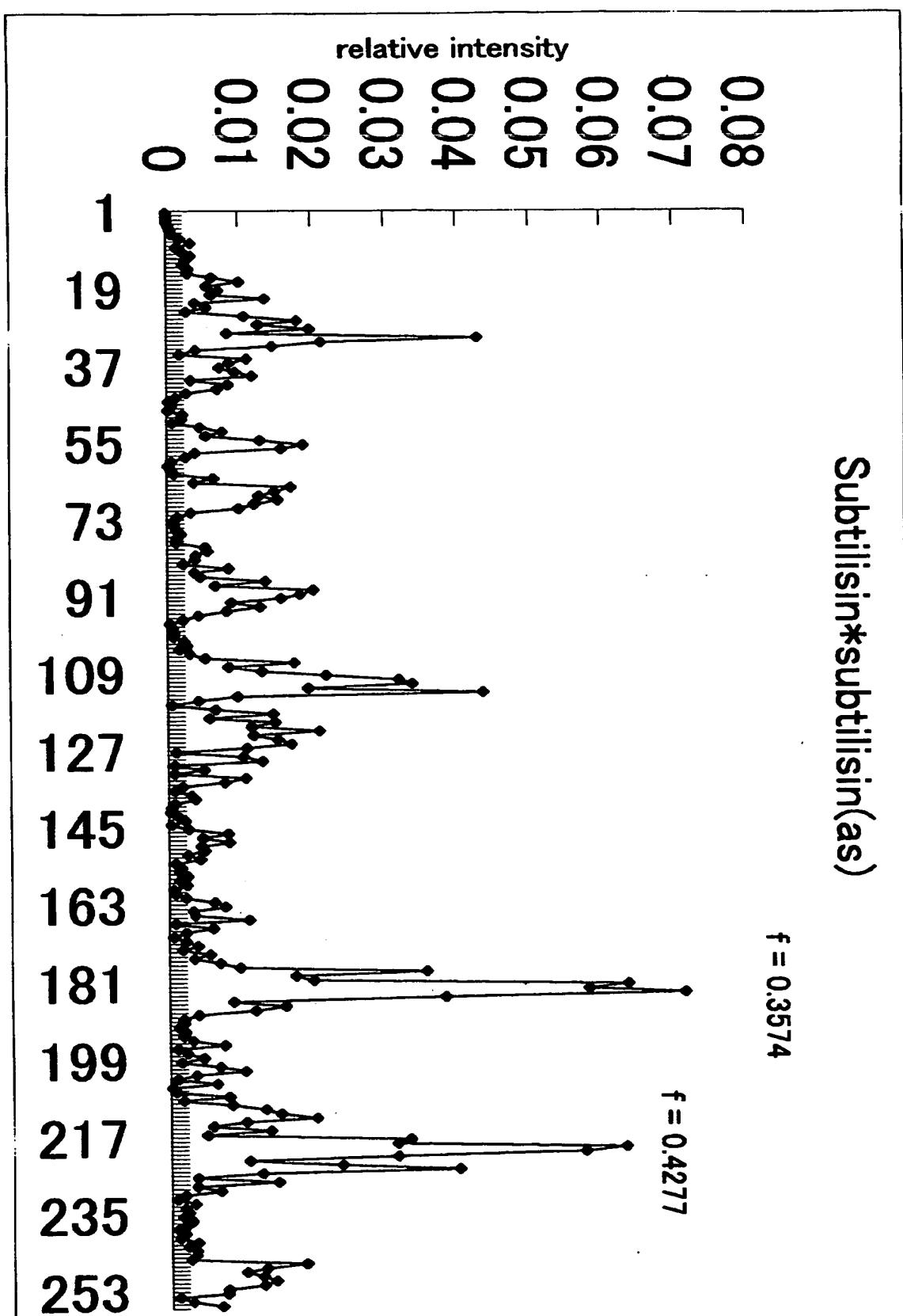
$f = 0.2207$

$f = 0.4141$



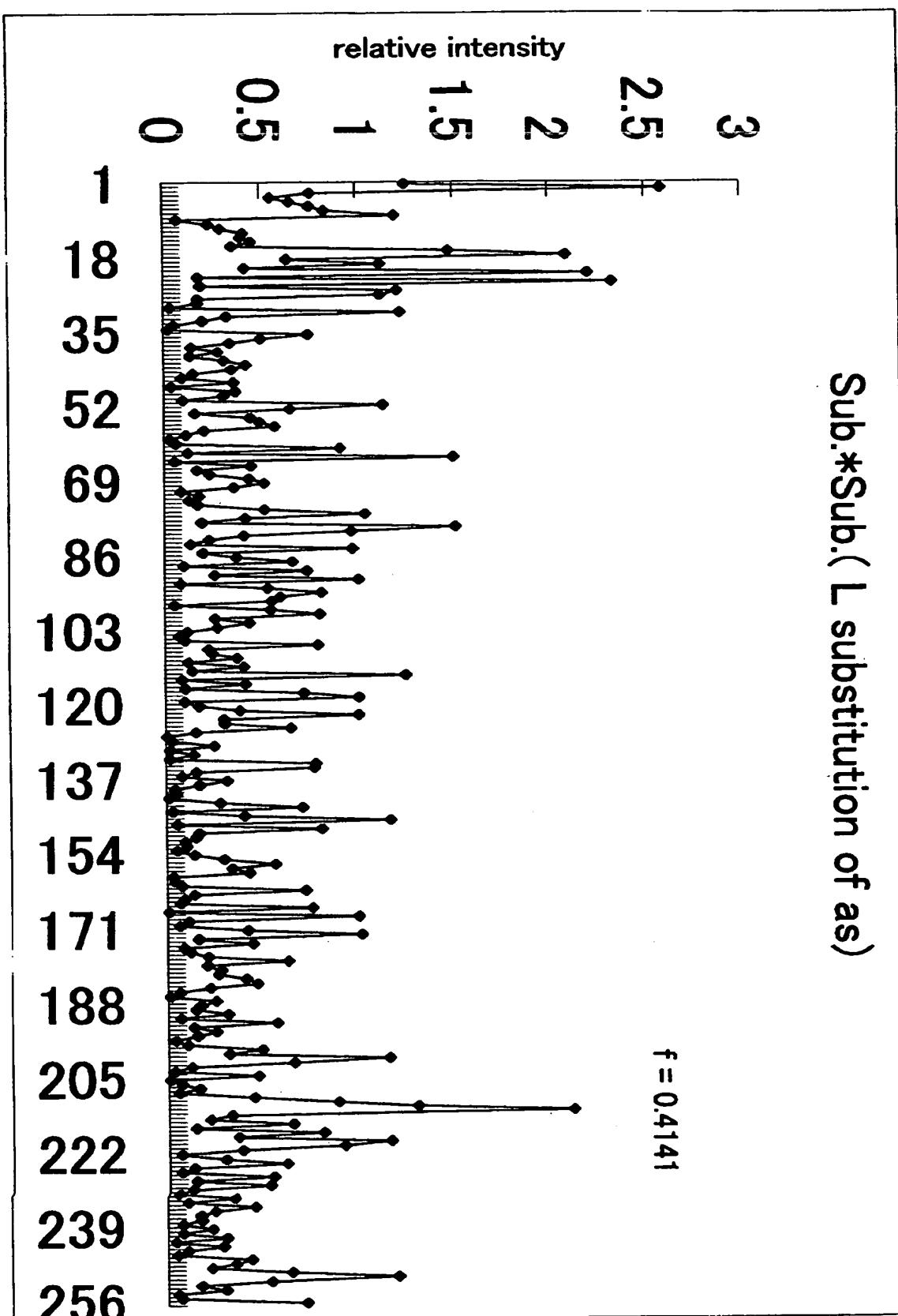
特2000-206129

【図17】



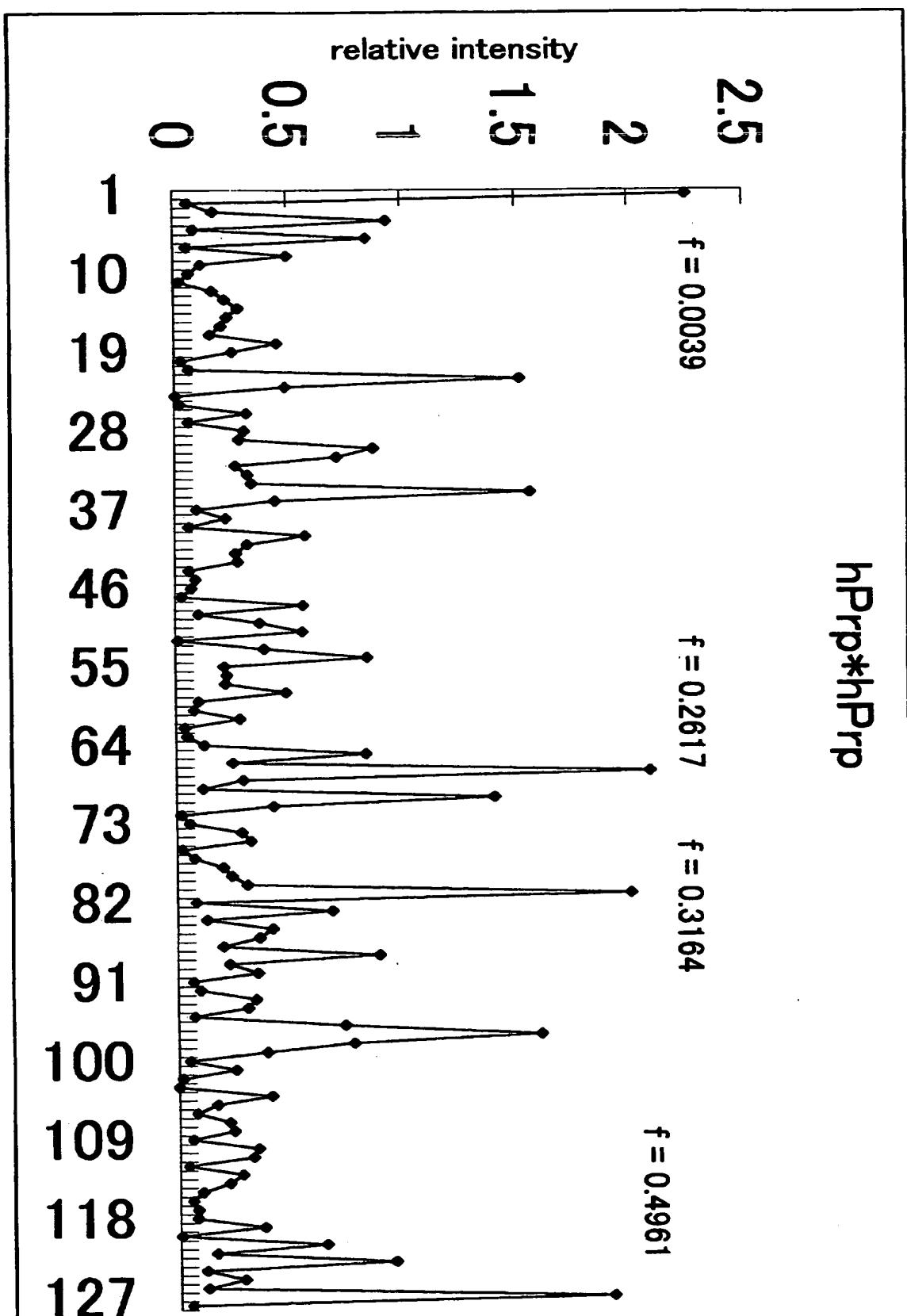
特2000-206129

【図18】



特2000-206129

【図19】

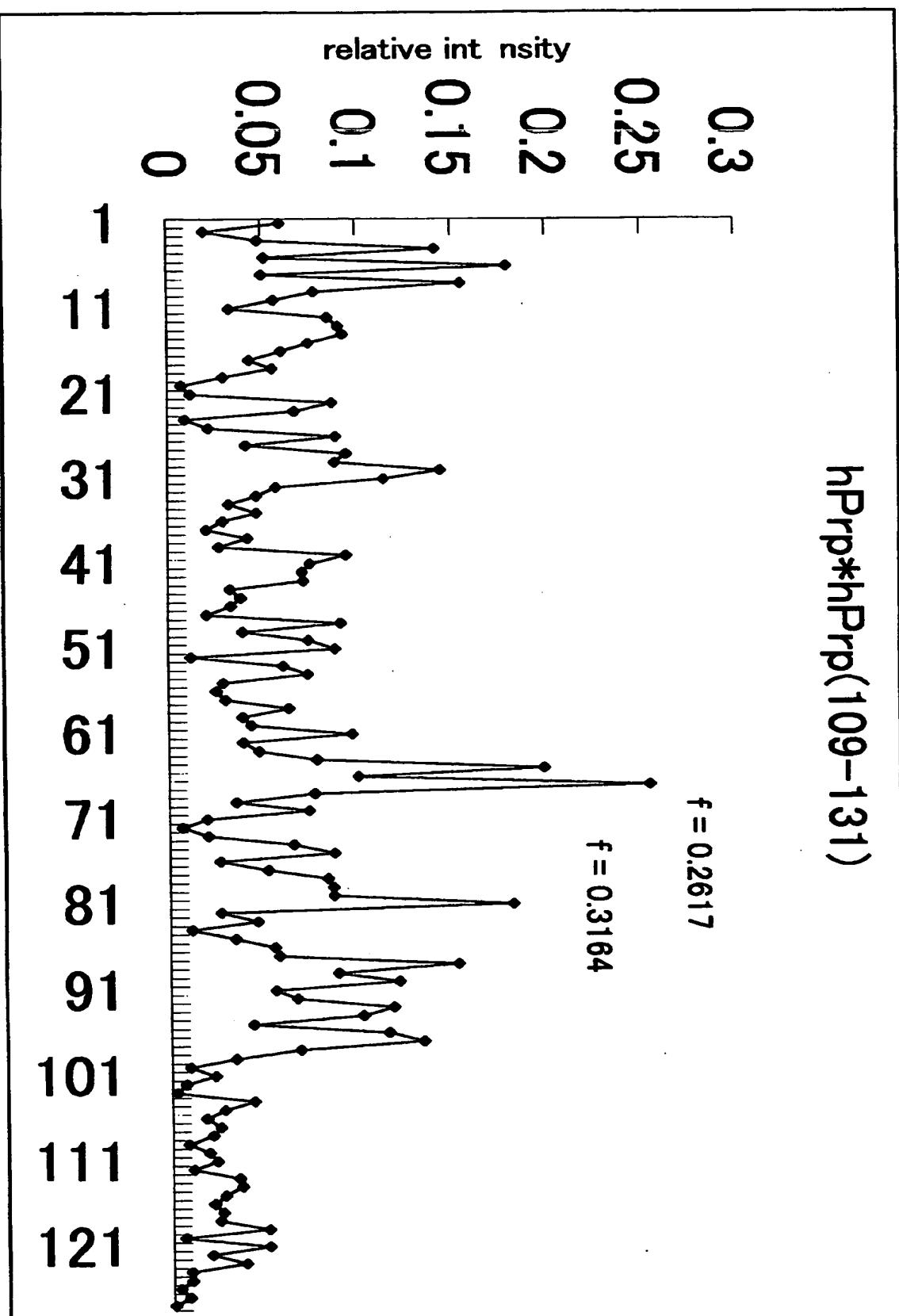


特2000-206129

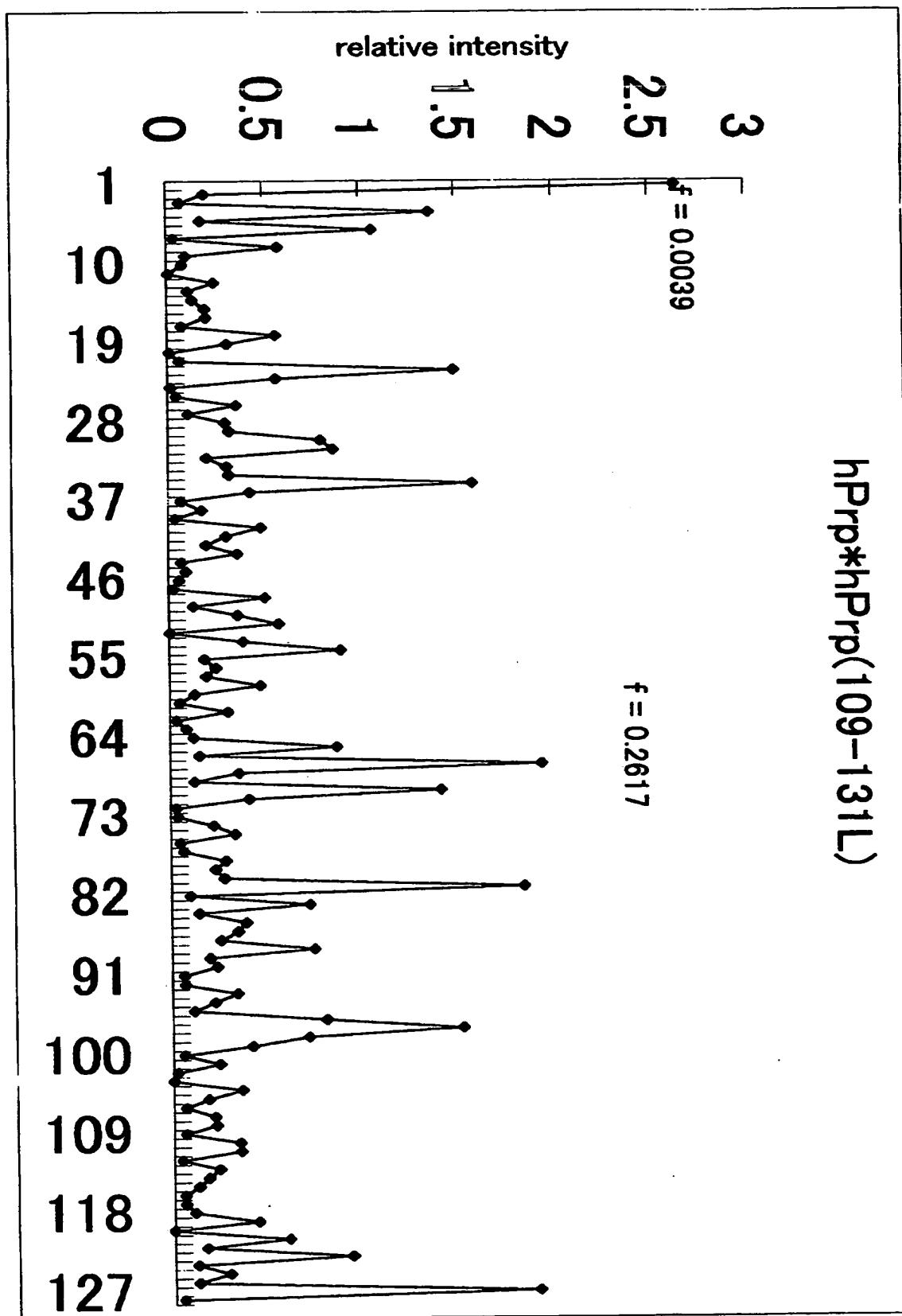
【図20】

特2000-206129

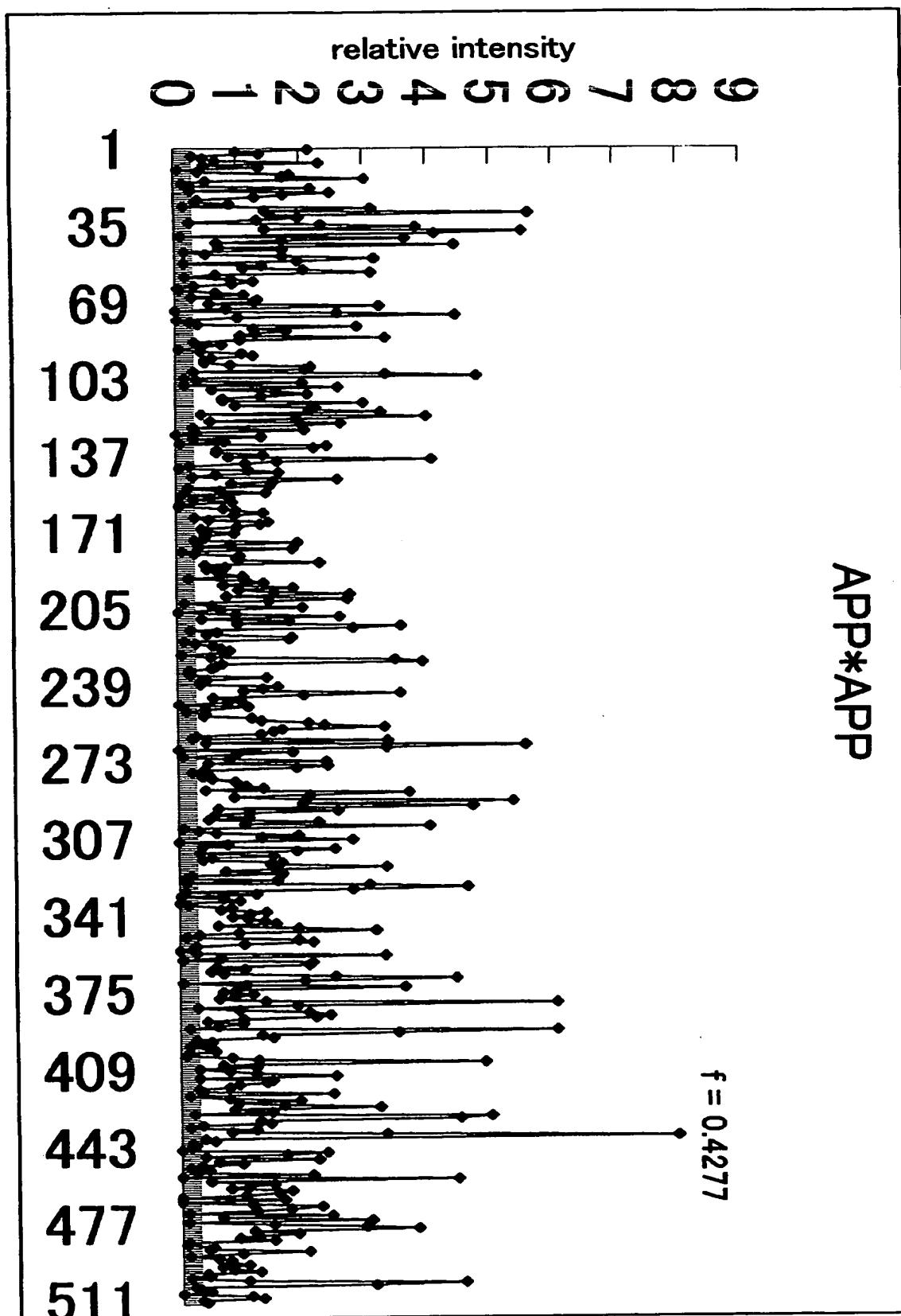
$hPrp * hPrp(109-131)$



【図21】

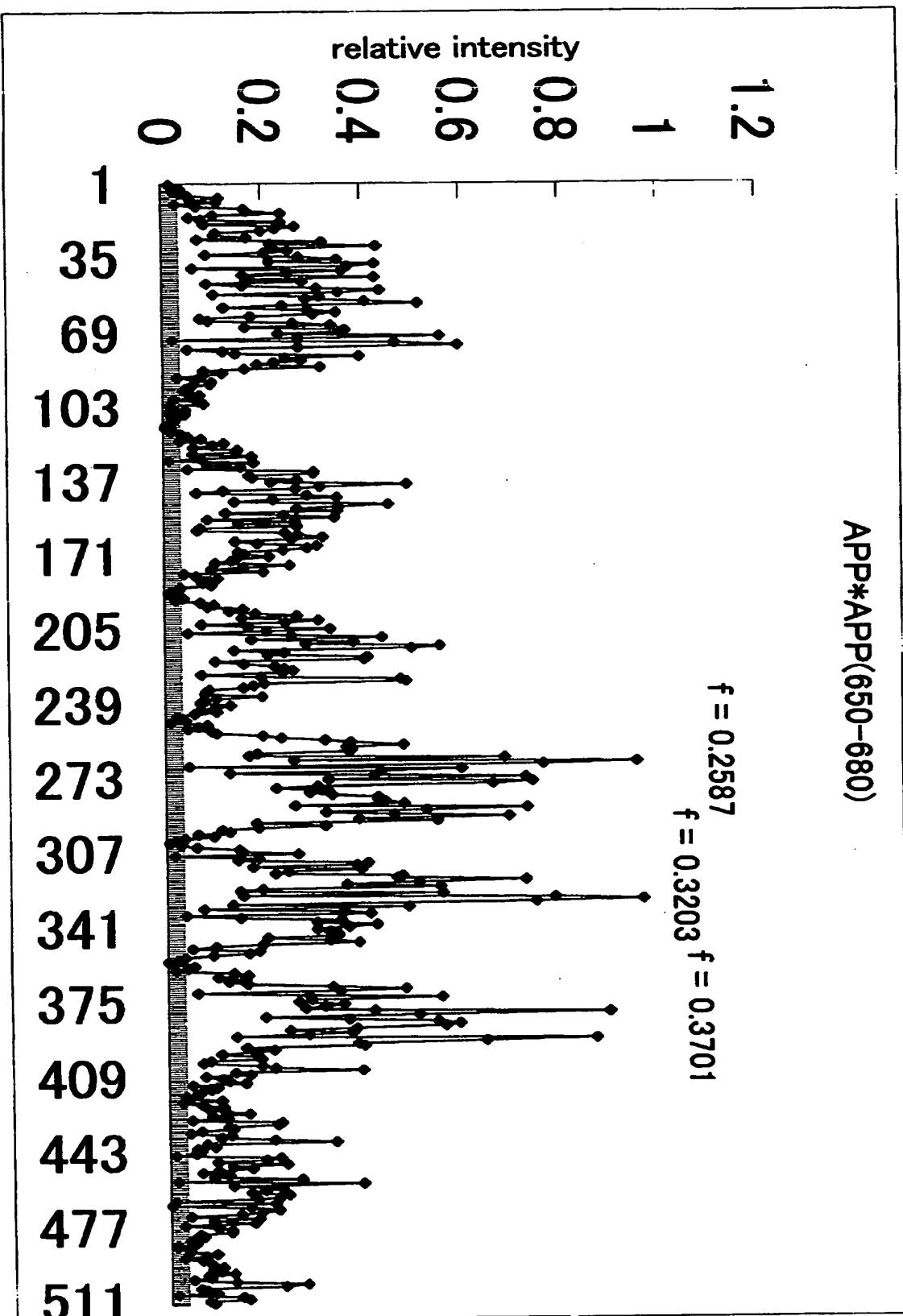


【図22】

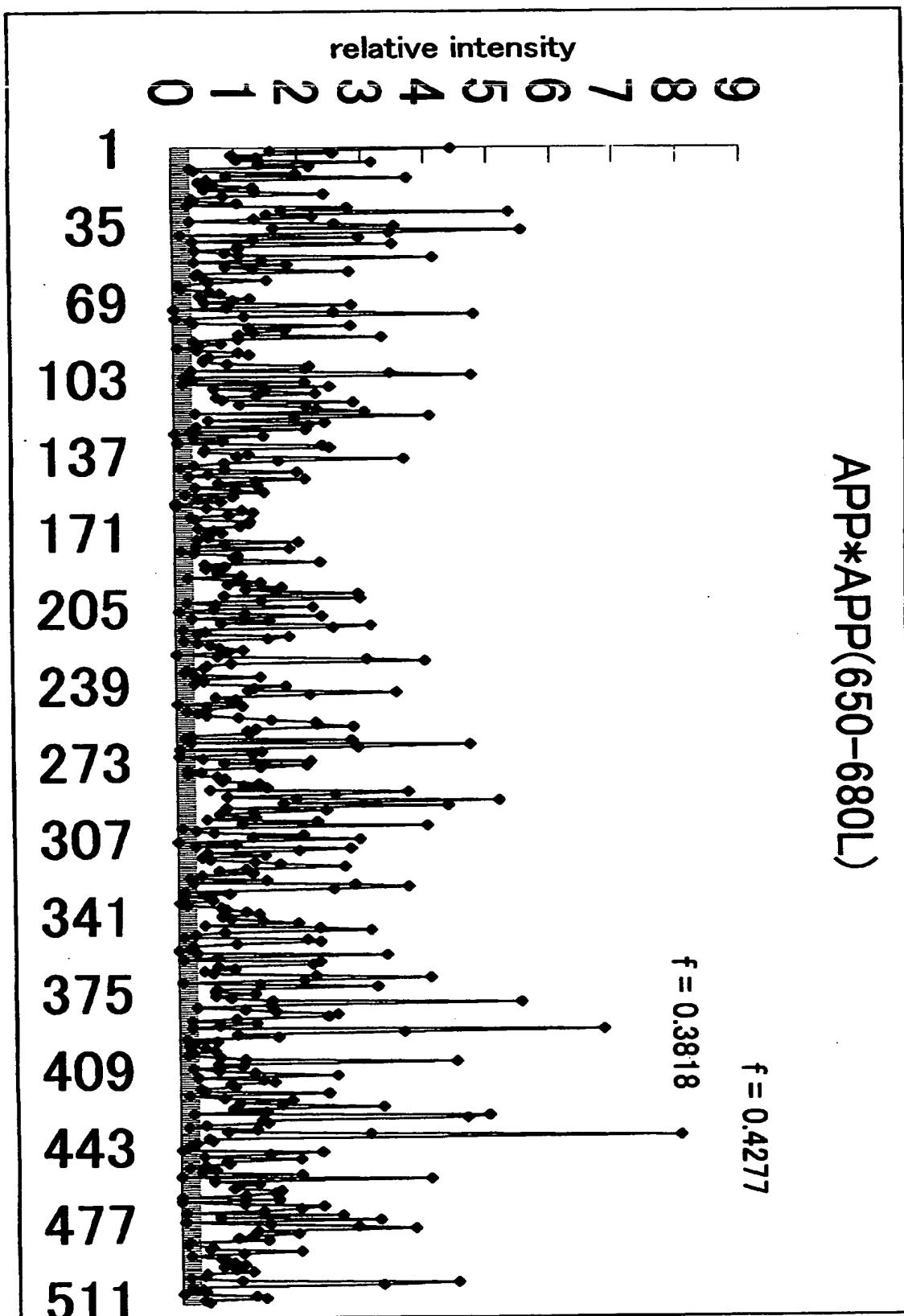


特2000-206129

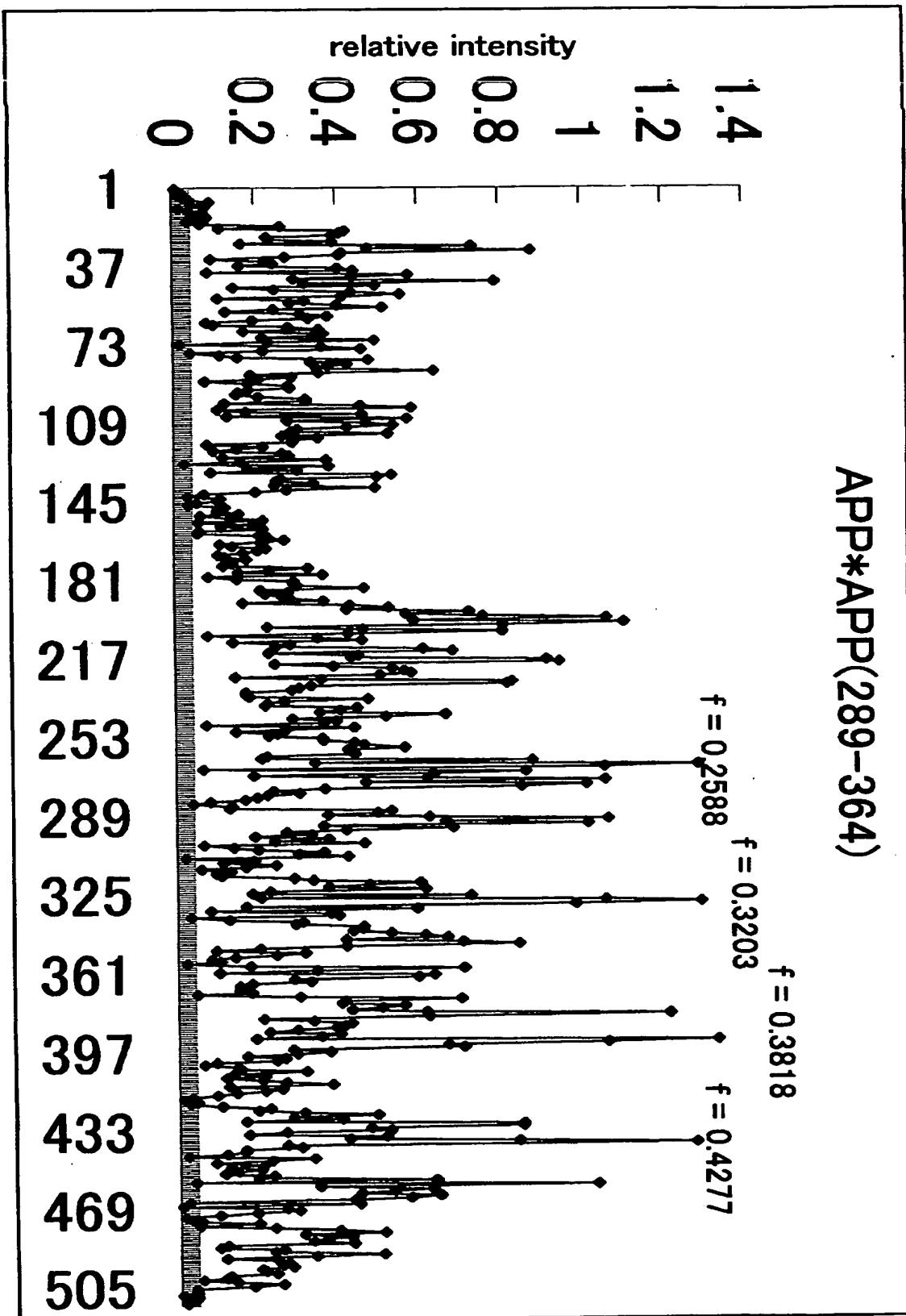
【図23】



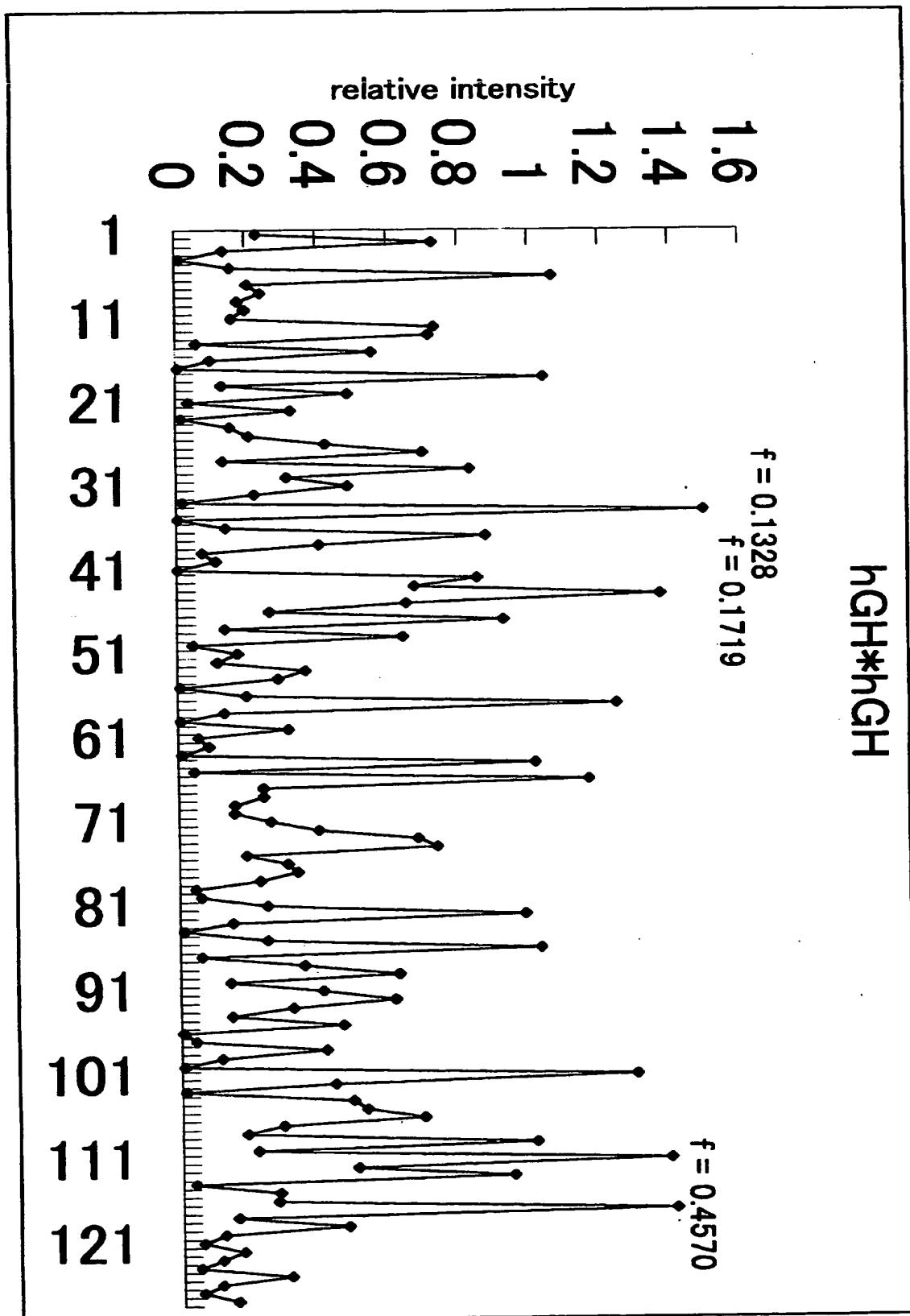
【図24】



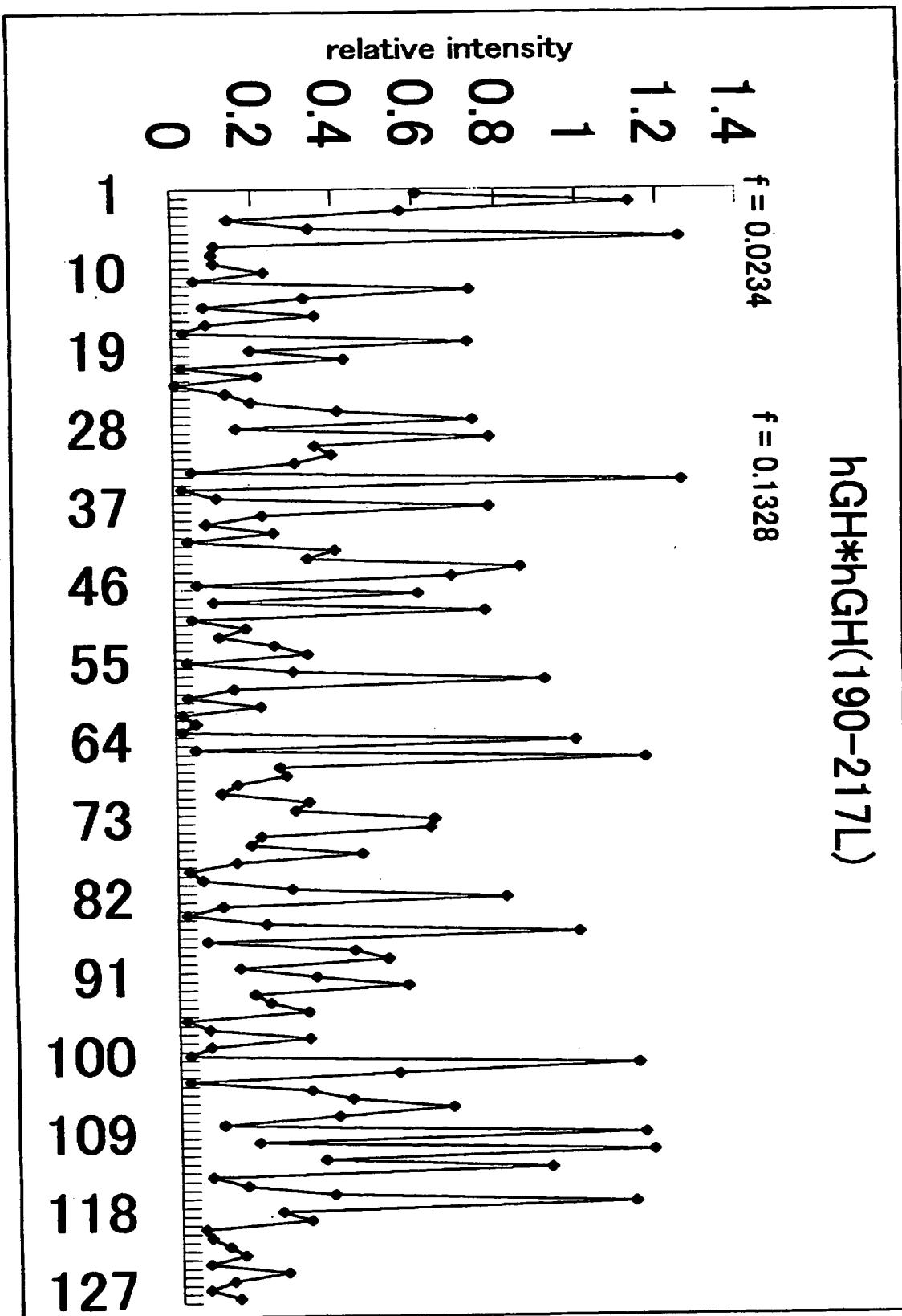
【図25】



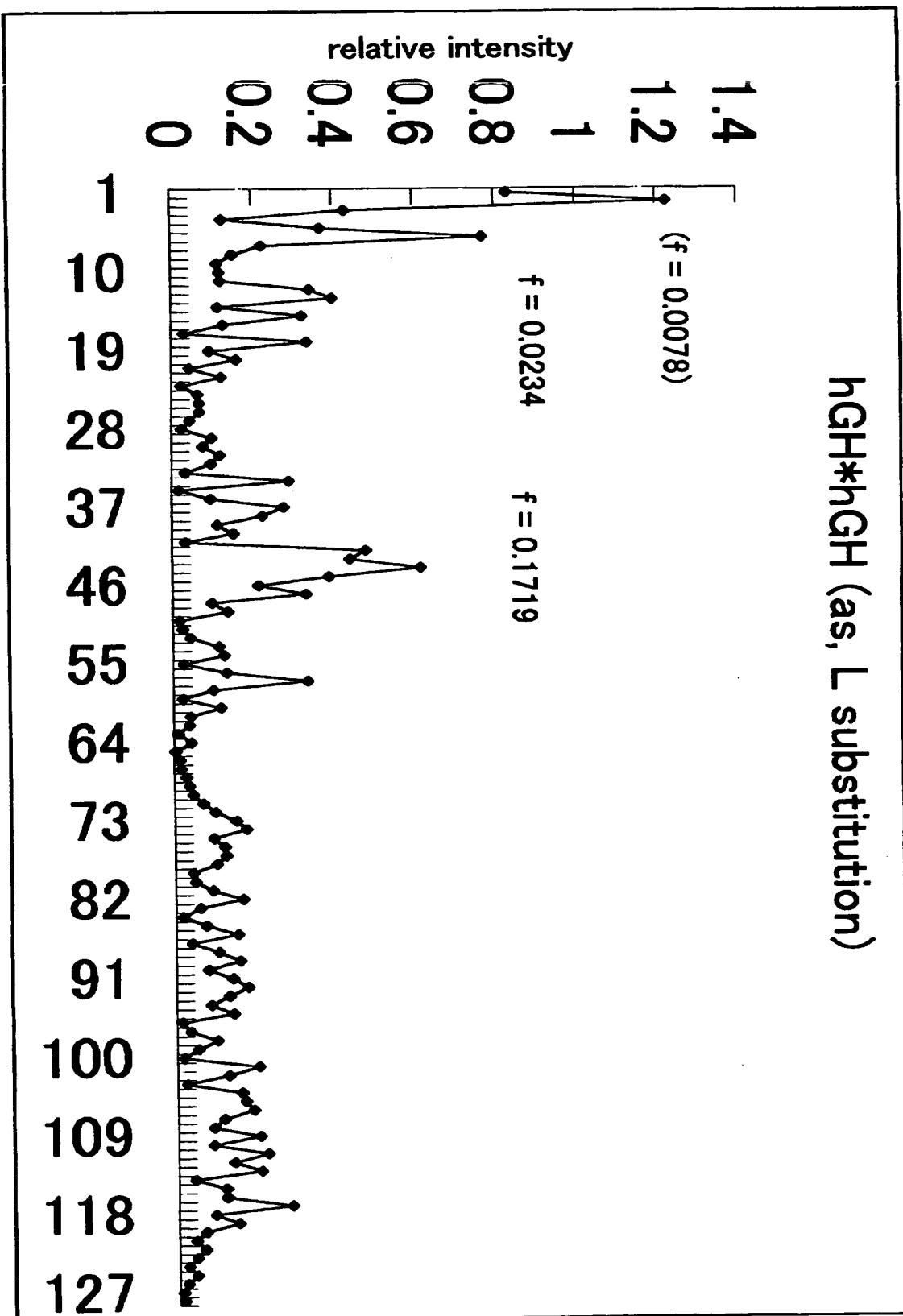
【図26】



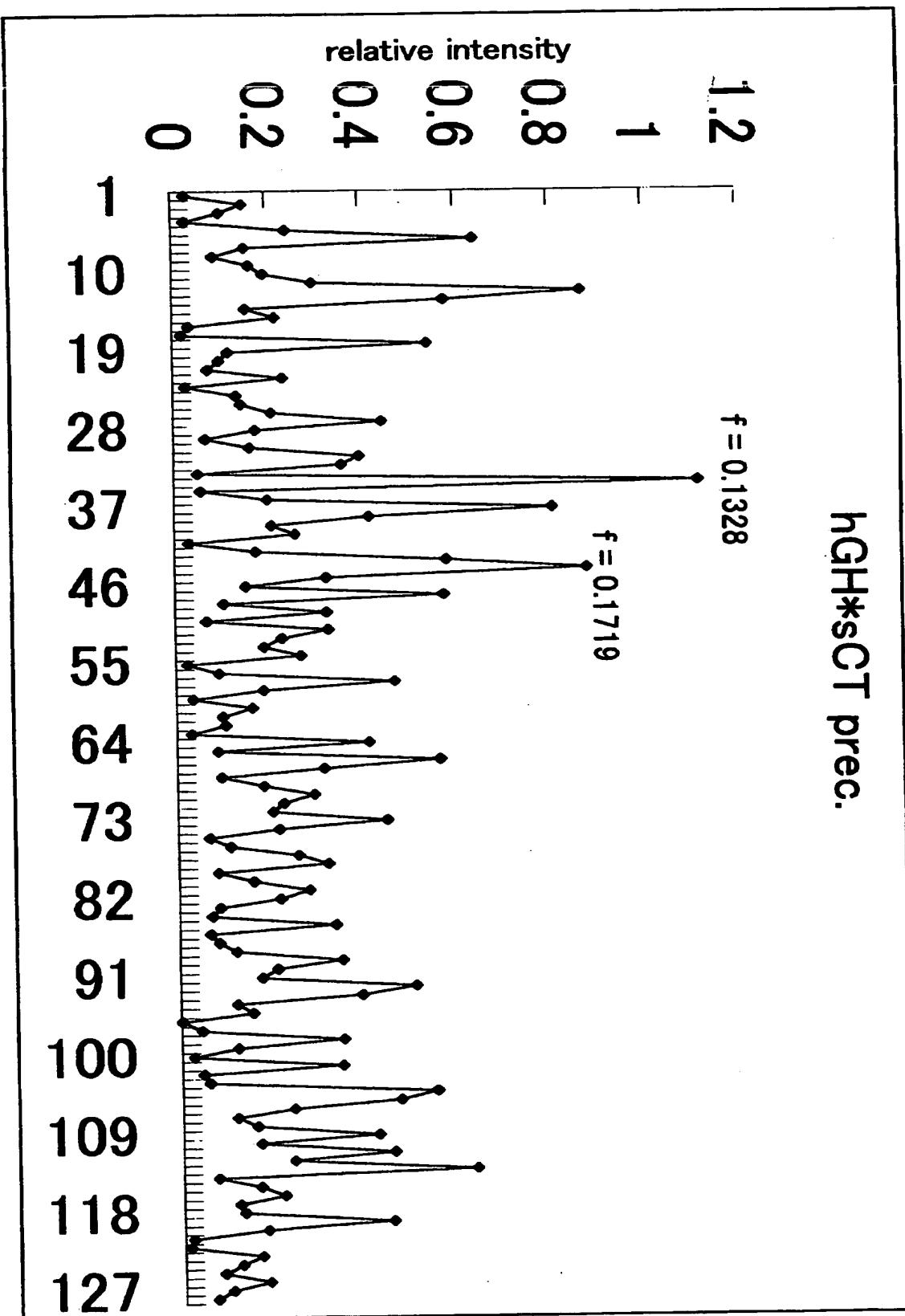
【図27】



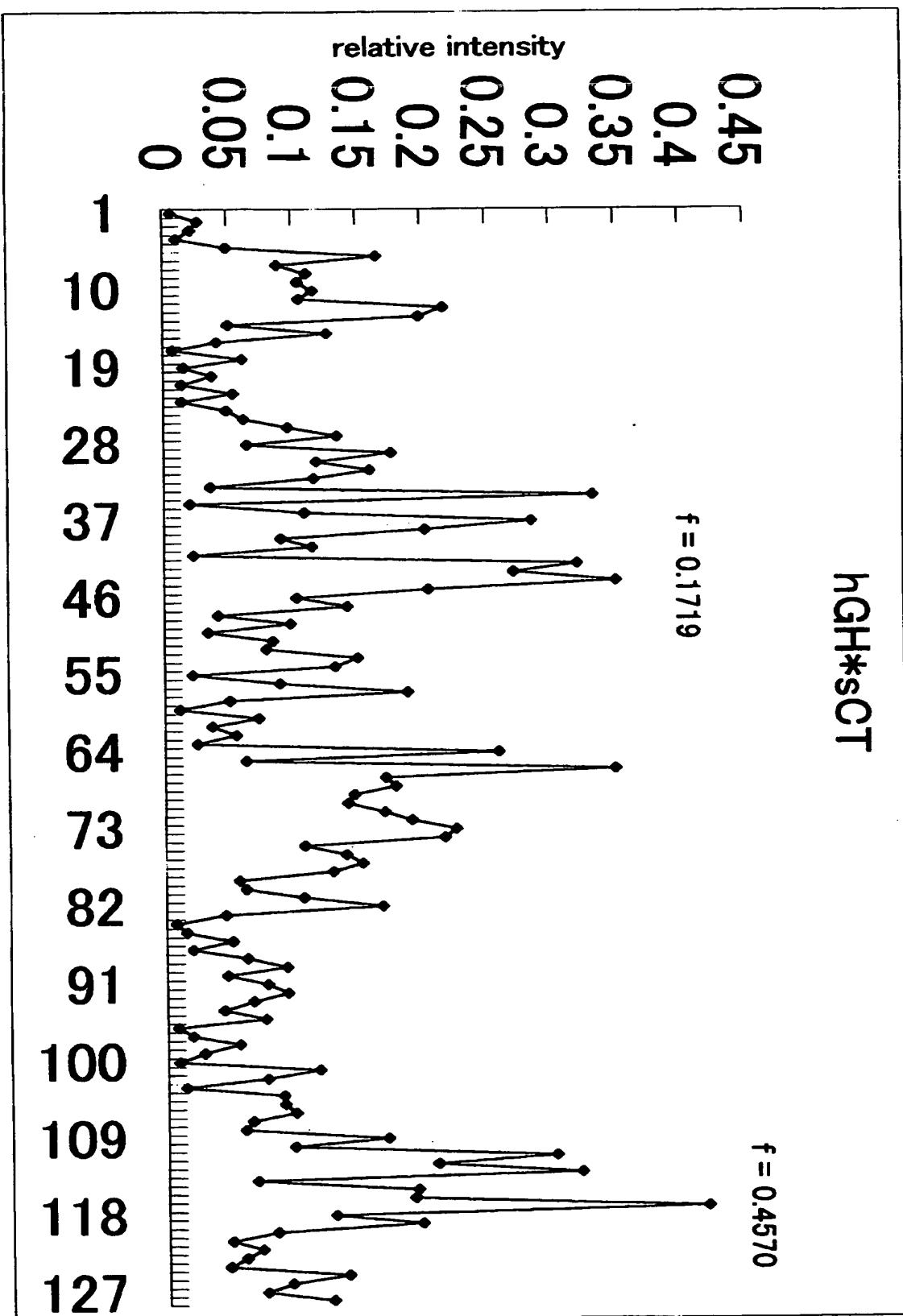
【図28】



【図29】



【図30】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 プリオン蛋白質と $\beta$ アミロイド蛋白質前駆体のオキザロアセテートに対しする脱炭酸活性や、カルシトニンヒト成長ホルモンとの類似の生物活性が期待できる等、これまで知られていない新しい生物・機能活性が簡単に予測することを課題とする。

【解決手段】 任意の蛋白質の全アミノ酸配列中に存在し、活性部位に関与する既知モチーフを含有するアミノ酸配列領域のアミノ酸（又は核酸）にEIIP指標数を付与し、得られた数値列（EIIP列）を離散フーリエ変換（DFT）して得られた周波数スペクトル及びその全アミノ酸配列のEIIP列をDFTにより得られた周波数スペクトルを求める。次いで、それらのスペクトルをクロスした全アミノ酸周波数スペクトルからその蛋白質の活性部位由来の特異的振動数値を選択し、特異的振動数値の近似値を検索することにより任意の蛋白質の生物・機能活性を予測する。

【選択図】 図1

出願人履歴情報

識別番号 [500321162]

1. 変更年月日 2000年 7月 7日

[変更理由] 新規登録

住 所 東京都町田市原町田5-2-17

氏 名 沼尾 長徳